

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA CELULAR,
EMBRIOLOGIA E GENÉTICA**

Patrícia Amorim da Cunha

**INFLUÊNCIA DE POLIMORFISMOS EM GENES
RELACIONADOS À OBESIDADE - *FTO* E *MC4R* - SOBRE O
CÂNCER DE MAMA EM MULHERES DO ESTADO DE SANTA
CATARINA**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado como requisito para o
cumprimento da disciplina BIO 7016
para a obtenção do Grau de Bacharel
em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof.^a, Dr.^a Ilíada Rainha
de Souza

Coorientadora: *MSc.* Lia Kubelka de
Carlos Back

Florianópolis
2011

AGRADECIMENTOS

Tenho imensa gratidão por todos que de alguma forma contribuíram para que eu realizasse esse trabalho.

À Universidade Federal de Santa Catarina onde realizei meu curso de Graduação em Ciências Biológicas.

À Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina (FAPESC) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), órgãos financiadores que possibilitaram a realização deste projeto de pesquisa e outros a ele relacionados.

Às voluntárias que aceitaram participar dessa pesquisa, pelo tempo despendido no preenchimento dos questionários e pela doação de uma amostra do seu material biológico. Um ato nobre, que ajudará no estudo de muitos aspectos importantes para prevenção, detecção e tratamento do câncer de mama.

Aos médicos e enfermeiros do Hospital Universitário e do Hospital e Maternidade Carmela Dutra, colaboradores que eficientemente auxiliaram nas coletas.

Aos membros do Laboratório de Polimorfismos Genéticos - LAPOGE - que auxiliaram na conservação e preparação das amostras para a extração de DNA, com certeza esse é mais um fruto de todo o nosso trabalho em equipe.

À minha orientadora, Prof.^a Dr.^a Ilíada Rainha de Souza, que confiou na minha capacidade e abriu as portas do LAPOGE para que eu pudesse estudar o que sempre sonhei. Ajudou-me muito ao longo de toda a graduação, através de seus ensinamentos, dedicação, paciência e atenção.

Ao Laboratório Biogenetika, que forneceu suporte e estrutura para a continuidade deste trabalho. Ofereceu-me a oportunidade de um estágio e a convivência com duas pessoas muito especiais:

Minha coorientadora, MSc. Lia Kubelka de Carlos Back, por quem guardo um grande afeto e gratidão. Foi quem teve a idéia inovadora de estruturação desse trabalho e despendeu esforços para que

ele fosse elaborado da melhor maneira. Confiou em mim e na minha capacidade. É um exemplo de conduta que irei recordar constantemente.

E a minha supervisora de estágio, amiga e conselheira, *MSc.* Aline Fernanda Rodrigues Sereia. Uma pessoa que me estimula a questionar e a aprender, em quem me espelho a cada dia. Explicou-me todas as técnicas de laboratório assim que ingressei, tanto no LAPOGE quanto no Biogenetika. Passou horas me ensinando teorias, análises e revisando meus textos, além disso, proporcionou-me excelentes conversas. Sou muito grata a toda sua dedicação, pois sua contribuição foi essencial para minha evolução acadêmica e pessoal.

À banca examinadora, Dr.^a Carla Ivane Ganz Vogel, Dr.^a Luciane Regina Cavalli e Dr.^a Yara Costa Netto Muniz, que gentilmente aceitaram o convite e prontamente se dispuseram a avaliar e contribuir com este trabalho.

Em especial:

Aos meus pais e irmãos, por todo amor, apoio e suporte que me ofereceram ao longo de toda a minha vida e principalmente durante o período da faculdade.

Ao Fernando, meu querido companheiro, que com sua presença tem feito meus dias mais felizes.

A toda minha família, amigos e colegas. É muito bom ter vocês por perto.

“O conhecimento amplia a vida. Conhecer é viver
uma realidade que a ignorância impede desfrutar.”
(Carlos Bernardo González Pecotche)

RESUMO

O câncer de mama (CAMA) é o tipo de câncer mais frequente entre as mulheres ocidentais. Sabe-se que a obesidade, principalmente na pós-menopausa, é um fator de risco para o seu desenvolvimento. Recentemente, alguns estudos identificaram polimorfismos que possuem influência sobre o índice de massa corpórea (IMC), entre eles estão os SNPs: rs1121980 (T/C) e rs9939609 (A/T) no gene *FTO* e o rs17782313 (T/C) no gene *MC4R*. O objetivo deste estudo foi verificar a associação destes SNPs com o risco de CAMA em 100 mulheres diagnosticadas com a doença e 148 mulheres saudáveis do estado de Santa Catarina. O SNP foi identificado por PCR em Tempo Real com sondas Taqman[®]. A *Odds Ratio* (OR) foi calculada através de regressão logística binária (SPSS v.12.0), IC95%; $p \leq 0,05$. As duas populações estão em Equilíbrio de Hardy-Weinberg. As frequências dos alelos de risco em controles e em casos, respectivamente, foram: rs1121980 (T) 0,45/0,40; rs9939609 (A) 0,41/0,38; rs17782313 (C) 0,15/0,23. A menarca precoce apresentou uma associação significativa com o câncer de mama (OR=2,239; IC95% 1,084-4,627; $p=0,029$). A presença do alelo C, do SNP *MC4R* rs17782313, conferiu um risco de 1,740 para o CAMA (IC95% 1,016-2,980, $p=0,044$); quando o alelo C foi analisado em conjunto com o sobrepeso em mulheres na fase de pós-menopausa, este valor foi ainda maior (no modelo dominante – OR=2,772; IC95% 1,057-7,267; $p=0,038$; e no modelo comparação de heterozigoto – OR=3,256; IC95% 1,109-9,557, $p=0,032$). Os SNPs do gene *FTO* estão em forte desequilíbrio de ligação. Os três SNPs estudados não apresentaram associações significativas com IMCs elevados no grupo controle ou no grupo de pacientes. Este foi um dos primeiros trabalhos a determinar as frequências alélicas dos SNPs *FTO* rs1121980 e rs9939609 e *MC4R* rs17782313 na população brasileira. Encontrou-se uma importante associação entre o SNP *MC4R* rs17782313 e o câncer de mama, nunca antes descrita na literatura. Conclui-se que esses SNPs precisam ser mais amplamente estudados quanto às suas relações com o CAMA e o IMC na população brasileira, a fim de que se possa no futuro corroborar estes primeiros achados.

Palavras-chave: Câncer de mama; Gene *FTO*; Gene *MC4R*; IMC; Obesidade; Sobrepeso.

ABSTRACT

Breast cancer (BC) is the most common cancer among western women. Obesity is a well-known risk factor for BC, mainly in postmenopausal women. Recently several studies have shown some variants linked to body mass index (BMI), such as the SNPs: rs1121980 (T/C) and rs9939609 (A/T) in the *FTO* gene and the rs17782313 (T/C) in the *MC4R* gene. To investigate the association between these SNPs and the BC risk it was performed a case-control study with a group of 100 BC patients and 148 healthy women from Santa Catarina, Brazil. The SNPs were genotyped using Taqman[®] Assays. The Odds Ratio (OR) was calculated by using SPSS software (version 12.0), IC95%; $p \leq 0,05$. The genotypes for case and controls were in Hardy Weinberg Equilibrium. The allele frequency in controls and cases respectively were: rs1121980 (T) 0,45/0,40; rs9939609 (A) 0,41/0,38; rs17782313 (C) 0,15/0,23. The early menarche was positively associated with BC risk (OR=2,239; IC95% 1,084-4,627; $p=0,029$). The *MC4R* rs17782313 C allele showed a 1,740 risk for BC (IC95% 1,016-2,980, $p=0,044$); when the C allele was analyzed in overweight postmenopausal women the risk was higher (dominant model - OR=2,772; IC95% 1,057-7,267; $p=0,038$; and heterozygous comparison model – OR=3,256; IC95% 1,109-9,557, $p=0,032$). The *FTO* SNPs were in strong linkage disequilibrium. The three SNPs were not associated with high BMI in the control or case group. This is one of the first studies to determine the *FTO* rs1121980 and rs9939609 and *MC4R* rs17782313 allele frequencies in the Brazilian population. An important and unpublished association between *MC4R* rs17782313 SNP and BC was found. In conclusion, further studies on these SNPs and its association with BC and BMI are needed in the Brazilian population to support these initial findings.

Keywords: Breast cancer; *FTO* gene; *MC4R* gene; BMI; Obesity; Overweight.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Representação do tecido mamário.	27
Figura 2 – Representação do sistema leptina-melanocortina.	37
Figura 3 – Modelo de gráfico obtido após a PCR em Tempo Real.....	46

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Classificação e distribuição das frequências de origem geográfica entre controles e pacientes diagnosticadas com câncer de mama.	49
Gráfico 2 – Classificação e distribuição das frequências de escolaridade entre controles e pacientes diagnosticadas com câncer de mama.	51

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Reagentes e volumes utilizados no protocolo de genotipagem dos SNPs.	46
--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Caracterização dos polimorfismos genéticos do tipo SNP analisados neste estudo.....	44
Tabela 2 – Sequências das sondas fluorescentes VIC [®] e FAM [™] para cada SNP analisado.	45
Tabela 3 – Caracterização dos modelos de análise de associação para cada SNP.	48
Tabela 4 – Caracterização epidemiológica da amostra populacional (grupo controle e grupo de pacientes diagnosticadas com câncer de mama) e análise de OR para susceptibilidade ao câncer de mama.	52
Tabela 5 – Análise de associação de IMC com o câncer de mama em mulheres nas fases de pré-menopausa e na pós-menopausa.	54
Tabela 6 – Caracterização das pacientes com câncer de mama.	55
Tabela 7 – Frequências genotípicas (TT, TC, CC), frequências alélicas (T e C) e verificação do EHW do SNP <i>FTO</i> rs1121980, no grupo controle e no grupo de pacientes diagnosticadas com câncer de mama.	56
Tabela 8 – Valores de OR do SNP <i>FTO</i> rs1121980 com o câncer de mama.	56
Tabela 9 – Análise de associação de IMC e do SNP <i>FTO</i> rs1121980, com o câncer de mama através de quatro modelos estatísticos.	58
Tabela 10 – Análise de associação do SNP <i>FTO</i> rs1121980 em conjunto com os dados epidemiológicos, com o câncer de mama através de quatro modelos estatísticos.	58
Tabela 11 – Análise de associação de IMC e do SNP <i>FTO</i> rs1121980, com o câncer de mama em mulheres na pré-menopausa através de quatro modelos estatísticos.	59
Tabela 12 – Análise de associação de IMC e do SNP <i>FTO</i> rs1121980, com o câncer de mama em mulheres na pós-menopausa através de quatro modelos estatísticos.	59
Tabela 13 – Frequências genotípicas (AA, AT, TT), frequências alélicas (A e T) e verificação do EHW do SNP <i>FTO</i> rs9939609, no grupo controle e no grupo de pacientes diagnosticadas com câncer de mama.	60
Tabela 14 – Valores de OR do SNP <i>FTO</i> rs9939609 com o câncer de mama.	60
Tabela 15 – Análise de associação de IMC e do SNP <i>FTO</i> rs9939609 com câncer de mama através de quatro modelos estatísticos.	61
Tabela 16 – Análise do SNP <i>FTO</i> rs9939609 e dados epidemiológicos com o câncer de mama através de quatro modelos estatísticos.	61
Tabela 17 – Análise de associação de IMC e do SNP <i>FTO</i> rs9939609 com o câncer de mama em mulheres na pré-menopausa através de quatro modelos estatísticos.	62
Tabela 18 – Análise de associação de IMC e do SNP <i>FTO</i> rs9939609 com o câncer de mama em mulheres na pós-menopausa através de quatro modelos estatísticos.	62

Tabela 19 – Frequências genótípicas (TT, TC, CC), frequências alélicas T e C) e verificação do EHW do SNP <i>MC4R</i> rs17782313, no grupo controle e no grupo de pacientes diagnosticadas com câncer de mama.....	63
Tabela 20 – Valores de OR do SNP <i>MC4R</i> rs17782313 com o câncer de mama através de quatro modelos estatísticos.	63
Tabela 21 – Análise de associação de IMC e do SNP <i>MC4R</i> rs17782312 com o câncer de mama através de quatro modelos estatísticos.	65
Tabela 22 – Análise de associação do SNP <i>MC4R</i> rs17782313 em conjunto com os dados epidemiológicos, com o câncer de mama através de quatro modelos estatísticos.....	65
Tabela 23 – Análise de associação de IMC e do SNP <i>MC4R</i> rs17782313 com o câncer de mama em mulheres na pré-menopausa através de quatro modelos estatísticos.....	66
Tabela 24 – Análise de associação de IMC e do SNP <i>MC4R</i> rs17782313 com o câncer de mama em mulheres na pós-menopausa através de quatro modelos estatísticos.....	66
Tabela 25 – Análise das combinações dos genótipos dos SNPs rs1121980 e rs9939609 do gene <i>FTO</i> . Os alelos de risco estão indicados em negrito.	68
Tabela 26 – Análise das interações entre a presença dos alelos de risco dos SNPs estudados (<i>FTO</i> rs1121980, <i>FTO</i> rs9939609 e <i>MC4R</i> rs17782313) com o câncer de mama.	68
Tabela 27 – Análise de associação do SNP <i>FTO</i> rs1121980 com IMC no grupo controle através de quatro modelos estatísticos.	70
Tabela 28 – Análise de associação do SNP <i>FTO</i> rs9939609 com IMC no grupo controle através de quatro modelos estatísticos.	70
Tabela 29 – Análise de associação do SNP <i>MC4R</i> rs17782313 com IMC no grupo controle através de quatro modelos estatísticos.	70
Tabela 30 – Análise de associação do SNP <i>FTO</i> rs1121980 com IMC no grupo de pacientes através de quatro modelos estatísticos.	71
Tabela 31 – Análise de associação do SNP <i>FTO</i> rs9939609 com IMC no grupo de pacientes através de quatro modelos estatísticos.	71
Tabela 32 – Análise de associação do SNP <i>MC4R</i> rs17782313 com IMC no grupo de pacientes através de quatro modelos estatísticos.....	71
Tabela 33 – Frequência do alelo de risco (T) do SNP <i>FTO</i> rs1121980 em diferentes populações.....	76
Tabela 34 – Frequência do alelo de risco (A) do SNP <i>FTO</i> rs9939609 em diferentes populações.....	79
Tabela 35 – Frequência do alelo de risco (C) do SNP <i>FTO</i> rs9939609 em diferentes populações.....	82
Tabela 36 – Associações dos SNPs <i>FTO</i> rs1121980, <i>FTO</i> rs9939609 e <i>MC4R</i> rs17782313 encontradas em algumas populações.....	86

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A	Adenina
AgRP	Agouti-related Reptide
ARC	Hypothalamic Arcuate Nucleus
<i>BRCA1</i>	<i>Breast cancer 1, early onset</i>
<i>BRCA2</i>	<i>Breast cancer 2, early onset</i>
C	Citosina
CDI	Carcinoma Ductal Invasivo
CDIS	Carcinoma ductal “ <i>in situ</i> ”
CLI	Carcinoma Lobular Invasivo
CLIS	Carcinoma Lobular “ <i>in situ</i> ”
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid
EHW	Equilíbrio de Hardy-Weinberg
<i>FTO</i>	<i>Fat mass and obesity associated</i>
g	Força centrífuga
GWA	<i>Genome Wide Association</i>
<i>HER2/neu</i>	<i>Human Epidermal Growth Factor 2</i>
IC95%	Intervalo de confiança de 95%
IGF	<i>Insulin-like growth factor</i>
IMC	Índice de Massa Corpórea
LepR	<i>Leptin Receptor</i>
<i>MC4R</i>	<i>Melanocortin-4 receptor</i>
mRNA	<i>Messenger Ribonucleic Acid</i>
OR	<i>Odds ratio</i>
<i>p</i>	Probabilidade
pb	Pares de base
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
POMC	Pro-opiomelanocortin
PVN	Paraventricular nucleus
RE	Receptor de estrogênio
RP	Receptor de progesterona
SNP	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i>
T	Timina
α -MSH	α -Melanocyte Stimulating Hormone
χ^2	Qui-quadrado

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	25
1.1 CÂNCER	25
1.2 CÂNCER DE MAMA	26
1.2.1 Epidemiologia	26
1.2.2 Fisiopatologia	26
1.2.3 Genética do Câncer de Mama	30
1.2.4 Fatores de Risco e de Proteção e Prevenção	31
1.2.5 Sobrepeso e Obesidade e o Câncer de Mama	32
2 JUSTIFICATIVA	39
3 OBJETIVOS	41
3.1 OBJETIVOS GERAIS	41
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	41
4 METODOLOGIA	43
4.1 AMOSTRA POPULACIONAL	43
4.2 COLETA, SEPARAÇÃO E CONSERVAÇÃO DAS AMOSTRAS	43
4.3 EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE DNA GENÔMICO	44
4.4 GENOTIPAGEM	44
4.5 ANÁLISE E TRATAMENTO DOS DADOS	47
5 RESULTADOS	49
5.1 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA POPULACIONAL E ANÁLISE DOS DADOS EPIDEMIOLÓGICOS	49
5.1.1 Caracterização Clinicopatológica das Pacientes com Câncer de Mama	54
5.2 ANÁLISES DOS SNPs DOS GENES <i>FTO</i> E <i>MC4R</i> E SUAS ASSOCIAÇÕES COM O CÂNCER DE MAMA ..	56
5.2.1 SNP <i>FTO</i> rs1121980	56
5.2.2 SNP <i>FTO</i> rs9939609	60
5.2.3 SNP <i>MC4R</i> rs17782313	63
5.3 ANÁLISES DE INTERAÇÕES ENTRE OS SNPs DOS GENES <i>FTO</i> E <i>MC4R</i>	67

5.3.1 Desequilíbrio de Ligação e Associação entre <i>Loci</i> Não Ligados.....	67
5.3.2 Estimativa das Frequências dos Haplótipos dos SNPs do gene <i>FTO</i> e Análise com o Câncer de Mama ..	67
5.3.3 Interações entre os Genótipos dos SNPs do Gene <i>FTO</i> e o Câncer de Mama.....	67
5.3.4 Interações entre a Presença dos Alelos de Risco dos SNPs nos genes <i>FTO</i> e <i>MC4R</i> e o Câncer de Mama	68
5.4 ANÁLISES DE ASSOCIAÇÃO DOS SNPs NOS GENES <i>FTO</i> E <i>MC4R</i> COM O IMC	68
5.4.1 No Grupo Controle.....	69
5.4.2 No Grupo de Pacientes	69
6 DISCUSSÃO	73
6.1 ASSOCIAÇÃO DOS DADOS EPIDEMIOLÓGICOS E O RISCO NO DESENVOLVIMENTO DO CÂNCER DE MAMA	73
6.1.1 Análise do IMC com o Câncer de Mama.....	74
6.2 ANÁLISES DOS SNPs DOS GENES <i>FTO</i> E <i>MC4R</i> E SUAS ASSOCIAÇÕES COM O CÂNCER DE MAMA ..	74
6.2.1 SNP <i>FTO</i> rs1121980	75
6.2.2 SNP <i>FTO</i> rs9939609	78
6.2.3 SNP <i>MC4R</i> rs17782313	81
6.3 ANÁLISES DE INTERAÇÕES ENTRE OS SNPs	84
6.3.1 Desequilíbrio de Ligação e Associação entre <i>Loci</i> Não Ligados.....	84
6.3.2 Interações entre a Presença dos Alelos de Risco dos SNPs e o Câncer de Mama.....	85
6.4 ANÁLISES DE ASSOCIAÇÃO DOS SNPs NOS GENES <i>FTO</i> E <i>MC4R</i> COM O IMC	85
6.4.1 No Grupo Controle.....	85
6.4.2 No grupo de Pacientes	89
7. CONCLUSÕES.....	91
REFERÊNCIAS	93
ANEXO A.....	111
ANEXO B.....	117

1 INTRODUÇÃO

1.1 CÂNCER

Câncer é um termo genérico utilizado para designar um grande grupo de doenças que podem afetar qualquer parte do corpo. Ele é caracterizado pela rápida e descontrolada proliferação de células anormais, que crescem além de seus limites habituais e podem invadir tecidos adjacentes. Estas células podem ser capazes de se espalhar para outros órgãos, um processo denominado metástase e que representa a maior causa de morte por câncer (WHO, 2011a).

O câncer se origina de um processo complexo que ocorre em várias etapas, a carcinogênese. As células tornam-se malignas através de lesões no seu material genético, que levam a uma série de mutações progressivas e cumulativas. Por este motivo, o câncer é classificado como uma doença essencialmente genética. Estas lesões são o resultado de interações entre fatores internos e externos ao organismo. Dentre os fatores externos estão, por exemplo, a exposição à radiação, a agentes químicos ou a organismos infecciosos. Como fatores internos, podem ser citadas as mutações e os polimorfismos genéticos herdados, os níveis hormonais e a condição imunológica do indivíduo. Apesar das células possuírem mecanismos de reparo que ajudam na remoção da maior parte dessas lesões, muitas delas acabam não sendo reparadas ou são reparadas de forma incorreta, propiciando o início do aparecimento da doença (AMENDOLA; VIEIRA, 2005; WHO, 2011a; ACS, 2011a).

Em 2008, verificou-se a ocorrência de 7,6 milhões de óbitos por câncer, o que corresponde a aproximadamente 13% de todas as mortes no mundo. Os principais tipos de câncer que levam a óbito são o de pulmão, estômago, cólon e reto, fígado e o de mama. Mais de 70% dessas mortes ocorrem em países de baixa e média renda. As taxas tendem a continuar crescendo, com um número estimado de 11 milhões de mortes em 2030 (WHO, 2011a).

No Brasil, as estimativas do Instituto Nacional de Câncer (INCA) para o ano de 2012 serão válidas também para 2013. É apontada a ocorrência de aproximadamente 518.510 casos novos de câncer. De maneira geral, as regiões Sul e Sudeste apresentam as maiores taxas de ocorrência da doença, sendo que em Santa Catarina são esperados 19.190 casos novos de câncer. Os tipos mais incidentes no Brasil, à exceção do câncer de pele do tipo não melanoma, são os cânceres de próstata, de pulmão, de cólon e reto e de estômago no gênero masculino

e os cânceres de mama, de colo do útero, de cólon e reto e de glândula tireoide no gênero feminino (INCA, 2011a).

1.2 CÂNCER DE MAMA

1.2.1 Epidemiologia

O câncer de mama é o segundo tipo de câncer mais frequente no mundo e o mais comum entre as mulheres. Em 2008 foram diagnosticados cerca de 1,4 milhões de casos novos, o que corresponde a 23% de todos os casos de câncer. Apesar de ser muito mais frequente em mulheres, ele também pode afetar os homens (WHO, 2008; INCA, 2011b; ACS, 2011b).

No Brasil, excluídos os tumores de pele não melanoma, o câncer de mama também é o tipo mais incidente na população feminina. Para o ano de 2012, são estimados 52.680 casos novos de câncer de mama, dentre estes, 1.630 no Estado de Santa Catarina. Em nível nacional há um risco estimado de 52 casos a cada 100 mil mulheres, no entanto, na região Sul, este risco aumenta para 65 casos a cada 100 mil mulheres (INCA, 2011a).

O câncer de mama é o tipo de câncer que mais causa óbitos na população feminina e é a quinta causa de morte por câncer na população mundial. Embora seja considerada uma doença de países desenvolvidos, a maioria das mortes por câncer de mama (69%) ocorre em países em desenvolvimento. A sobrevida média após cinco anos é de cerca de 85% em países desenvolvidos, porém, nos países em desenvolvimento a sobrevida fica em torno de 60% (WHO, 2011b; INCA, 2011a; INCA, 2011b).

As taxas de mortalidade por câncer de mama continuam elevadas no Brasil. Em 2007, verificou-se aproximadamente 11 óbitos a cada 100 mil mulheres. Isto faz do câncer de mama a maior causa de morte entre as brasileiras, principalmente na faixa entre 40 e 69 anos. É provável que isto se deva pelo fato da doença ainda ser diagnosticada em estágios avançados (INCA, 2011a).

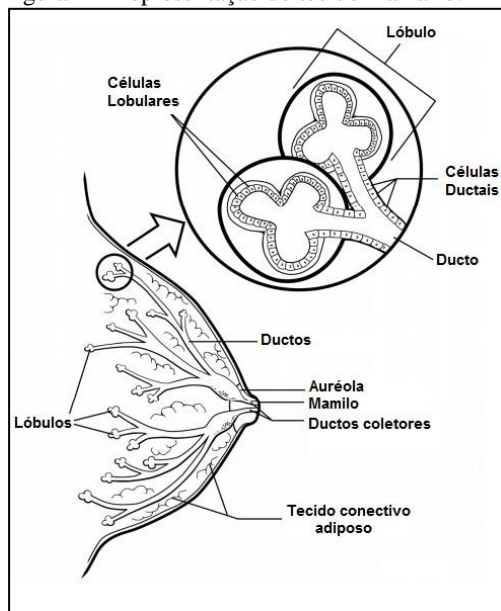
1.2.2 Fisiopatologia

Os primeiros indícios da possível existência de um câncer de mama são frequentemente detectados como anomalias em uma mamografia, mas também podem ser percebidos anteriormente pela própria mulher, através do auto-exame das mamas, ou por um

profissional de saúde, através do exame clínico das mamas. Tumores maiores podem tornar-se evidentes como uma massa indolor. Os sintomas menos comuns incluem alterações da mama, como: espessamento, edema, distorção, sensibilidade, irritação na pele, vermelhidão ou descamação, ou ainda anormalidades do mamilo, como: ulceração, retração ou derramamento espontâneo de fluido (ACS, 2011a).

O câncer de mama tem origem no tecido mamário, que é constituído de pequenas glândulas capazes de produzir leite, os lóbulos, e de ductos que conectam os lóbulos ao mamilo. O restante da mama é constituído por tecido conectivo, adiposo e linfático (Figura 1) (ACS, 2011b).

Figura 1 – Representação do tecido mamário.



Demonstração da sua constituição por lóbulos, ductos, tecido conectivo, adiposo, auréola, mamilo e ductos coletores.

Fonte: Traduzido de ACS, 2011b

Os tumores malignos de mama podem ser chamados de: carcinoma, por iniciarem em tecidos epiteliais; adenocarcinoma, por terem início em tecido glandular; ou sarcoma, um tipo menos frequente, caracterizado por tumores iniciados em tecido conectivo (ACS, 2011b).

Os carcinomas mamários são classificados em invasivos (ou infiltrantes) quando ultrapassam a barreira do tecido onde se originaram e invadem o tecido mamário adjacente. Quando se confinam ao seu local de origem, são classificados em “*in situ*” (ou não invasivos). Os carcinomas mamários também se subdividem de acordo com a sua origem em: lobulares, quando se iniciam nos lóbulos e ductais, quando se originam nos ductos (ACS, 2011b; BREASTCANCER.ORG, 2010).

A classificação básica dos carcinomas mamários é (ACS, 2011b; BREASTCANCER.ORG, 2010; INCA, 2011b):

- Carcinoma ductal “*in situ*” (CDIS): é o tipo de câncer de mama não invasivo mais frequente. Significa que o tumor está confinado ao ducto, portanto, não irá se espalhar para os linfonodos e outros órgãos do corpo. Aproximadamente todos os casos de câncer de mama neste estágio podem ser curados. Porém, este tipo de tumor aumenta o risco de desenvolver um câncer de mama invasivo mais tarde.

- Carcinoma Lobular “*in situ*” (CLIS): este tipo de tumor não é muito frequente e não é considerado um câncer verdadeiro, porém, ele aumenta o risco de desenvolver câncer de mama futuramente. Normalmente, as pessoas diagnosticadas com CLIS tendem a ter mais de um lóbulo afetado, e são diagnosticadas durante a pré-menopausa, mais comumente entre as idades de 40 e 50 anos. É um tumor que não causa sintomas e geralmente não é detectado na mamografia.

- Carcinoma Ductal Invasivo (CDI): é o tipo histológico mais comum e compreende entre 80 e 90% do total de casos. Ele tem início nos ductos e invade o tecido mamário vizinho. Mais tarde, pode se espalhar para os linfonodos e para outras partes do corpo (metástase), processo que ocorre em 8 a cada 10 pacientes. Apesar do CDI afetar mulheres em qualquer período da vida, ele é mais comum naquelas com idade avançada.

- Carcinoma Lobular Invasivo (CLI): é o segundo tipo de câncer de mama invasivo mais comum e corresponde a cerca de 10% de todos os casos. Ele tem início nos lóbulos e invade o tecido mamário adjacente, tem a capacidade de criar metástases e invadir outros órgãos do corpo.

O câncer de mama é uma doença heterogênea, isto pode ser evidenciado pelas variadas manifestações clínicas e morfológicas, diferentes assinaturas genéticas e consequentes diferenças nas respostas terapêuticas (INCA, 2011b). No câncer de mama, a caracterização do tumor e da sua extensão é essencial na determinação do método terapêutico e na avaliação do prognóstico da paciente (RAKHA; ELLIS, 2011). As características mais analisadas são:

- Comprometimento de linfonodos: a principal maneira do câncer de mama se espalhar para outros órgãos do corpo é através do sistema linfático (ACS, 2011b). Geralmente, é realizada uma biópsia de alguns linfonodos (os linfonodos sentinela) para verificação de células cancerosas. Essa análise tem sido o fator mais importante de prognóstico nos estágios primários de câncer de mama. Estudos indicam que 15 a 30% das pacientes com linfonodos negativos terão recorrência da doença dentro de 10 anos, o que é pouco quando comparado com a recorrência de aproximadamente 70% das pacientes com linfonodos positivos (RAKHA; ELLIS, 2011).

- Tamanho do tumor: é um dos mais poderosos preditores do comportamento tumoral e está relacionado com a frequência de metástases em linfonodos. Quanto menor o tumor, menos metástases são encontradas e, conseqüentemente, a paciente possui uma sobrevida maior (RAKHA; ELLIS, 2011). Segundo o documento de classificação de tumores malignos (TNM) do INCA, os carcinomas mamários podem ser classificados em relação ao seu tamanho em (INCA, 2004):

- ✓ TX quando o tumor primário não pode ser avaliado;
- ✓ T0 quando não há evidência de tumor primário;
- ✓ Tis para carcinomas “*in situ*”;
- ✓ T1 para tumor com 2 cm ou menos em sua maior dimensão;
- ✓ T2 para tumor com mais de 2 cm e até 5 cm em sua maior dimensão;
- ✓ T3 para tumor com mais de 5 cm em sua maior dimensão;
- ✓ T4 para tumor de qualquer tamanho com extensão direta à parede torácica ou à pele.

- Grau de Elston e Ellis: foi uma metodologia proposta em 1991, na qual três parâmetros morfológicos são analisados: grau de formação tubular e glandular, grau de pleomorfismo nuclear e uma contagem mitótica. Um somatório de pontos é realizado para definir o grau do tumor em I, II ou III. Pacientes com tumores de grau I possuem uma sobrevida significativamente maior em relação às que possuem tumores de grau II ou III (ELSTON; ELLIS, 1991).

- Presença de receptores hormonais: alguns tumores de mama necessitam de hormônios para crescerem. Estes tumores possuem receptores para os hormônios estrogênio (RE), progesterona (RP), ou ambos. Quando há a presença destes receptores, a terapia hormonal é a mais recomendada. Cerca de dois a cada três tumores mamários malignos são positivos para pelo menos um desses receptores (ACS,

2011b). Aproximadamente 40% dos tumores que são positivos para o RE, são negativos para o RP. Geralmente, estes tumores respondem menos ao tratamento hormonal com tamoxifeno e inibidores de aromatase em relação aos tumores positivos para os dois receptores (RAKHA; ELLIS, 2011).

- Expressão de *HER2/neu*: o fator de crescimento epidermal 2 (HER2), também conhecido com *neu* e c-erbB-2, é uma proteína encontrada em alguns tipos de células cancerosas. Cerca de 1 a cada 5 cânceres de mama possuem uma superexpressão dessa proteína, sendo denominados tumores *HER2/neu*-positivos. Mais da metade desses tumores (aproximadamente 55%) são negativos para os receptores hormonais. Os cânceres assim classificados tendem a crescer e se espalhar mais rapidamente do que os demais, são indicadores de um prognóstico pobre e de baixa resposta à quimioterapia sistêmica, além de estarem associados a uma maior chance de recorrência da doença. Pacientes cujos tumores apresentam expressão aumentada para esta proteína são tratados com o anticorpo monoclonal herceptina (ou trastuzumab) (ACS, 2009; ACS, 2011b; RAKHA; ELLIS, 2011).

1.2.3 Genética do Câncer de Mama

O câncer de mama é uma doença multifatorial que resulta de interações complexas entre fatores genéticos, ambientais, comportamentais, hormonais e reprodutivos (INCA, 2011b).

O câncer de mama pode ser classificado como hereditário quando há um maior envolvimento do componente genético, por exemplo, pela herança de genes de alta penetrância, que são responsáveis pela regulação e pelo metabolismo hormonal e pelo reparo de DNA (INCA, 2011a). Os mais conhecidos são os genes *BRCA1* e *BRCA2*, que se mutados, aumentam para 85% a chance de desenvolver câncer de mama antes dos 70 anos de idade. Estes genes também estão associados a tumores de mama mais agressivos, de alto grau e negativos para RE (AMENDOLA; VIEIRA, 2005). Porém, as mutações responsáveis pela forma hereditária da doença são muito raras na população em geral, e responsáveis por somente 5 a 10% dos casos de câncer de mama (ACS, 2011a).

Os demais cânceres de mama são denominados esporádicos, onde há a participação de diversos fatores, associados a genes de baixa penetrância. Comumente, os genes de baixa penetrância codificam moléculas participantes de processos biológicos cruciais para o organismo e, ao apresentarem alterações, podem contribuir para o

desenvolvimento do câncer de mama. Genes com essas características estão sendo alvo de inúmeras investigações, uma vez que possuem papel importante para o entendimento da etiologia multifatorial da doença.

1.2.4 Fatores de Risco e de Proteção e Prevenção

Ser mulher e possuir uma idade avançada são os principais fatores de risco para o desenvolvimento do câncer de mama (ACS, 2011a). O risco aumenta quando há um histórico pessoal ou familiar da doença, assim como pela herança de algumas alterações genéticas (NCI, 2009; ACS, 2010).

Características sobre o histórico hormonal e reprodutivo da mulher parecem exercer um papel muito importante no câncer de mama. O risco é elevado nas mulheres que tiveram maior exposição aos hormônios estrogênio e progesterona, o que ocorre naquelas que possuem histórico de:

- Menarca precoce (idade da primeira menstruação menor que 12 anos);
- Menopausa tardia (iniciada após os 50 anos de idade);
- Primeira gestação após os 30 anos;
- Nuliparidade (não ter tido filhos);
- Uso prolongado de anticoncepcionais;
- Uso de terapia de reposição hormonal, principalmente se estendida por mais de cinco anos.

O número de ciclos ovarianos está diretamente relacionado ao risco de desenvolver o câncer da mama, esse risco é diminuído em cerca de 15% a cada ano de retardo do início da menarca, e é aumentado aproximadamente 3% a cada ano de retardo da menopausa. Sabe-se que a menopausa artificial apresenta efeito semelhante à menopausa natural (INCA, 2011a).

A amamentação é considerada um fator de proteção para o câncer de mama (INCA, 2011b). Este efeito pode estar associado ao menor tempo de exposição à ação de hormônios sexuais, que se encontram diminuídos durante a amenorreia induzida pela lactação (INUMARU et al., 2011). Outros fatores de proteção são: possuir vários filhos, ter uma dieta saudável e a prática de atividades físicas regulares (ACS, 2011a).

O sobrepeso e a obesidade, principalmente na pós-menopausa, são considerados fatores de risco para o câncer de mama. Outros fatores de risco incluem: a alta densidade do tecido mamário (razão entre glândula e tecido adiposo); a exposição a radiações ionizantes em idade

inferior a 40 anos; o consumo regular de bebidas alcoólicas; o tabagismo e o sedentarismo (INCA, 2011b; ACS, 2011a; ACS, 2009).

Devido à grande variação dos fatores de risco e das características genéticas envolvidas, ainda não é totalmente possível uma prevenção primária do câncer de mama. Atualmente, a mamografia para mulheres com idade entre 50 e 69 anos é o método mais recomendado para a detecção precoce da doença. No Brasil, as estratégias mais indicadas são: o exame clínico anual das mamas, a partir dos 40 anos; e o exame mamográfico, a cada dois anos para mulheres de 50 a 69 anos. Para as mulheres de grupos populacionais considerados de risco elevado para a doença, recomenda-se o exame clínico das mamas e a mamografia anualmente, a partir dos 35 anos (INCA, 2011a).

1.2.5 Sobrepeso e Obesidade e o Câncer de Mama

A obesidade e o sobrepeso são definidos como um acúmulo anormal ou excessivo de gordura, que pode prejudicar a saúde do indivíduo, e que resulta da interação entre estilo de vida e fatores genéticos (WHO, 2011c; RAZQUIN et al., 2010). O IMC é uma medida comumente usada para classificar o sobrepeso ($IMC \geq 25$) e a obesidade ($IMC \geq 30$) em adultos (WHO, 2011c).

O sobrepeso e a obesidade são considerados fatores de risco para o desenvolvimento do câncer de mama e estão associados ao pior prognóstico da doença (DIRAT et al., 2010). Também estão associados com outras doenças, como diabetes do tipo 2, doenças cardiovasculares (ABESO, 2011; KUSINSKA et al., 2011).

Sugere-se que os mecanismos envolvidos na associação da obesidade e do sobrepeso com o câncer de mama seriam alterações no metabolismo de hormônios, incluindo os esteroides sexuais, a insulina e os fatores de crescimento do tipo insulina (IGFs), que podem levar a uma modificação do balanço normal entre proliferação celular, diferenciação e apoptose (NAHLEH, 2011).

Os hormônios possuem um papel chave na etiologia do câncer de mama, provavelmente por promover a proliferação celular e, desta forma, aumentar as chances de uma mutação ocorrer (o que pode levar ao aparecimento do câncer) ou por estimular o crescimento de tumores pré-existentes (KEY et al., 2003).

Estudos indicam que o efeito da obesidade no risco de desenvolver o câncer de mama é dependente do estágio reprodutivo da mulher (HUANG et al., 1997; TRENTAM-DIETZ et al., 1997; BRANDT et al., 2000). Entre mulheres que estão na pós-menopausa, as obesas

possuem um risco 1,5 vezes maior de desenvolver a doença em relação às mulheres com peso adequado (NCI, 2004). O aumento desse risco pode ser explicado pelas diferenças na produção de estrogênio durante as fases de pré e pós-menopausa. Na pré-menopausa, o estrogênio é produzido principalmente nos ovários, onde a produção é controlada por *feed-back* negativo. Porém, esse hormônio também é produzido no tecido adiposo, onde não há controle por *feed-back*. Após a menopausa, quando os ovários cessam a produção de hormônios, o tecido adiposo se torna a principal fonte de estrogênio (KEY et al., 2003). Os níveis de estrogênio em mulheres na pós-menopausa são de 50 a 100% maiores nas obesas do que naquelas com índice de massa corpórea (IMC) normal (NCI, 2004). Assim, evitar o ganho de peso na idade adulta pode contribuir para a prevenção do câncer de mama após a menopausa (HUANG et al., 1997).

1.3 GENES RELACIONADOS À OBESIDADE

O reconhecimento de uma base genética para a obesidade tem possibilitado a identificação de diversos genes que contribuem para o desenvolvimento da doença. Muitos desses genes estão envolvidos em vias metabólicas importantes, que controlam a massa corporal e a deposição de gordura no organismo. Os estudos nessa área possuem como objetivos a elaboração de tratamentos mais personalizados e estratégias de prevenção contra a obesidade (RAZQUIN et al., 2010).

Foi através de estudos do tipo GWA (do inglês, *Genome Wide Association*) que diversos genes com grande importância na susceptibilidade à obesidade e ao sobrepeso foram identificados em diferentes populações (FRAYLING et al., 2007; SCUTERI et al., 2007; LOOS et al., 2008; BENZINO et al., 2008; HEARD-COSTA et al., 2009).

1.3.1 O Gene *FTO*

O *FTO* (do inglês, *fat mass and obesity associated gene*) é um gene longo, composto por oito íntrons e nove éxons que abrangem mais de 400 kb do cromossomo 16, onde está localizado na posição 16q12.2 (NCBI, 2011a).

É um gene bem conservado entre os vertebrados e algas, mas não é encontrado em animais invertebrados, fungos e vegetais (ROBBENS et al., 2008).

Este gene foi descoberto primeiramente em camundongos e recebeu o nome de FT (do inglês, *fused toes*), que corresponde ao

fenótipo de dedos unidos, condicionado por mutações do tipo deleção. Devido ao seu grande tamanho, o gene foi apelidado de *Fatso* (gordinho) e abreviado para *Fto* (VAN DER HOEVEN et al, 1994; PETERS et al., 1999; LIMA et al., 2010).

A função fisiológica exata da proteína codificada pelo gene *FTO* ainda é desconhecida, mas sabe-se que ela é uma demetilase de ácido nucléico dependente de 2-oxoglutarato e está localizada no núcleo das células. Sugere-se que ela desempenhe uma função no reparo de DNA e RNA, revertendo danos de alquilação por demetilação oxidativa (BOISSEL et al., 2009). Seus níveis de mRNA parecem ser regulados pelos intervalos entre as alimentações (GERKEN et al., 2007). Isto indica um possível papel no controle da homeostase energética, através da regulação primária do acúmulo de gordura corporal (LIMA et al., 2010).

A expressão do gene *FTO* ocorre em numerosos tecidos, como: tecido adiposo; ilhotas pancreáticas; músculos; rins, gônadas e principalmente no tecido cerebral, incluindo as regiões do hipotálamo, onde parece apresentar um papel na regulação do apetite (ANDREASEN; ANDERSEN, 2009; STRATIGOPOULOS et al., 2008).

O gene *FTO* foi identificado em humanos no ano de 2007, através de um estudo GWAS com o diabetes do tipo 2. Este estudo, com 38.759 voluntários, identificou um polimorfismo de nucleotídeo único (SNP, do inglês *Single Nucleotide Polymorphisms*) no primeiro íntron do gene *FTO*, o rs9939609 (A/T), que mostrou ter relação com o diabetes do tipo 2 através do aumento no IMC. Verificou-se ainda, que 16% dos adultos homozigotos para o alelo A pesavam cerca de três quilogramas a mais do que pessoas que não apresentavam este alelo, e um risco 1,67 vezes maior de desenvolver a obesidade (FRAYLING et al., 2007). Mais tarde, em outro estudo de coorte, com 5.607 indivíduos, foi observada novamente a associação desse polimorfismo com o IMC. Esta associação era evidenciada em indivíduos jovens e se mantinha até a fase adulta (FRAYLING et al., 2009).

O SNP rs9939609 foi analisado em vários estudos e, além da relação com o IMC e com diabetes do tipo 2 (WCTCC, 2007), encontrou-se associações com formas de doenças cardiovasculares (KIVIMAKI et al., 2008), síndrome metabólica (AL-ALTAR et al, 2008), idade da menarca (ELKS, 2010), doença de Alzheimer (KELLER et al., 2011), entre outras. Também mostrou estar associado com um maior risco de desenvolvimento de câncer endometrial (LURIE et al., 2011) e com o IMC em mulheres com síndrome do ovário policístico (YAN et al., 2009; KOWALSKA et al., 2009; TAN et al., 2010; EWENS et al., 2011).

Ainda não se tem conhecimento de como o alelo A, do SNP rs9939609 pode influenciar no maior acúmulo de gordura corporal. Supõe-se que este polimorfismo possa estar relacionado com uma estimulação do hipotálamo para poupar os estoques de gordura corporal, através da diminuição da saciedade e/ou do aumento da capacidade de captação de gordura pelos adipócitos (LIMA et al., 2010).

Apesar do rs9939609 ser o mais estudado, o gene *FTO* possui um total de 2.348 SNPs. Destes, 92 possuem importância científica conhecida, sendo que 26 estão relacionados com alterações no IMC (NCBI, 2011a; LIMA et al., 2010). Um deles é o rs1121980 (T/C), também localizado no primeiro íntron do gene *FTO*, que apresentou uma forte associação do alelo T com o IMC elevado e com a obesidade em alguns estudos:

- Em 2007, em um estudo caso-controle para obesidade com indivíduos franceses, onde foram avaliados 48 SNPs, o alelo T do SNP *FTO* rs1121980 foi o que mostrou estar mais fortemente associado com a obesidade severa (DINA et al., 2007).

- Em outro estudo em 2007, em uma população alemã, analisou-se mais de 440 mil SNPs, e novamente o alelo T do SNP rs1121980 mostrou uma forte associação com a obesidade (HINNEY et al., 2007).

- E em 2009, em um estudo realizado na Suécia, foram analisados 9 SNPs considerados de risco para a obesidade e o SNP *FTO* rs1121980 foi novamente o que mostrou estar mais fortemente associado. Verificou-se que cada alelo T aumentava o peso corporal em cerca de um quilograma (RENTSTROM et al., 2009).

Vários estudos tem mostrado que o efeito dos polimorfismos do gene *FTO* no aumento do IMC pode ser elevado através de pouca atividade física (ANDREASEN et al., 2008; LEE et al., 2010) e atenuado por atividades físicas diárias (RAMPERSAUD et al., 2008; VIMALESWARAN et al., 2009; RUIZ et al., 2010)

Estudos demonstraram que os SNPs rs9939609 e rs1121980 do gene *FTO* estão em forte desequilíbrio de ligação, provavelmente formando haplótipos (HINNEY et al. 2007; HOTTA et al. 2008; LUAN et al. 2009; VIMALESWARAN et al. 2009; WILLER et al. 2009; WING et al. 2009).

1.3.2 O Gene *MC4R*

O *MC4R* (do inglês, *melanocortin 4 receptor*) está localizado no cromossomo 18q22, é um gene composto de um único éxon e nenhum íntron. Este gene é constituído por 1.438 pares de base, dos quais, 999 são traduzidos em uma proteína de 332 aminoácidos. Esta é uma

proteína transmembrana, membro da família de receptores de melanocortina acoplados à proteína G (NCBI, 2011b; LOOS, 2011; LEE, 2009).

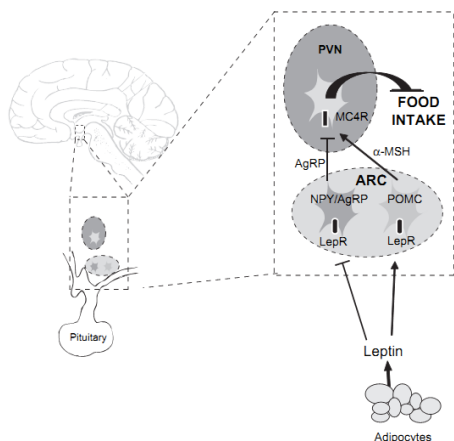
A expressão do gene *MC4R* ocorre no tecido adiposo, nos músculos e em várias regiões do cérebro, mas principalmente no núcleo hipotalâmico, onde desempenha um papel central no controle do consumo de alimentos e no balanço energético (HPRD, 2011; HO; MACKENZIE, 1999).

O receptor MC4 é modulado por seu agonista, o α -MSH (Alfa Hormônio Estimulador de Melanócito) (MOUNTJOY et al., 1994) e por seu antagonista, o AgRP (Peptídeo Relacionado a Agouti) (OLLMANN et al., 1998).

Quando o α -MSH se liga ao MC4R, as vias neurais anorexigênicas são estimuladas, como consequência, há uma diminuição do apetite e da ingestão de alimentos (MORI, 2001; COUTINHO, 2007). O α -MSH é um tipo de melanocortina derivada do precursor POMC (pro-opiomelanocortina) (YEO et al., 2000). O gene que sintetiza a POMC é expresso no hipotálamo quando estimulado por leptina, um hormônio secretado pelos adipócitos que tem a função de informar ao cérebro a quantidade de energia que está armazenada no tecido adiposo (COWLEY et al., 2001).

O AgRP é um inibidor do α -MSH e a sua expressão é inibida pela secreção de leptina pelos adipócitos (CONE, 1999). Quando o AgRP se liga ao MC4R, há um estímulo do apetite (MORI, 2001) (Figura 2).

Figura 2 – Representação do sistema leptina-melanocortina.



O hormônio leptina é secretado pelos adipócitos e se liga a seus receptores (LepR) em dois tipos de neurônios no núcleo arqueado do hipotálamo (ARC): nos neurônios que expressam o AgRP, onde inibem a sua produção; e nos neurônios que expressam a POMC, onde ativam a sua produção. A POMC é clivada e dá origem ao hormônio α -MSH, que irá se ligar ao MC4R e atuar na diminuição do apetite no núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN).

Fonte: RANADIVE; RAISSE, 2008

Em 1997 foi verificado pela primeira vez o papel do MC4R na regulação do peso corpóreo, quando se percebeu que alterações no seu gene levavam à hiperfagia, hiperinsulenemia e obesidade em camundongos (HUSZAR et al., 1997; LOOS, 2011).

Em 1998, foram identificadas as primeiras mutações no gene *MC4R* em humanos, que estavam relacionadas a formas extremas de obesidade (YEO et al., 1998; VAISSE et al., 1998). Estudos subsequentes estabeleceram as mutações no gene *MC4R* como a forma monogênica mais frequente de obesidade severa (HINNEY et al., 1999; SINA et al., 1999; DUBERN et al., 2001; JACOBSON et al., 2002; FAROOQI et al., 2003; LUBRANO-BERTHELIER et al., 2003; BRANSON et al., 2003; HINNEY et al., 2003; VALLI-JAAKOLA et al., 2004; LOOS, 2011).

Anos mais tarde, com os estudos GWA, diversos *loci* começaram a ser estudados para várias doenças, inclusive a obesidade. Um ano após a descoberta da influência dos SNPs do gene *FTO* no IMC, encontrou-se a associação de polimorfismos no gene *MC4R* com a obesidade. Um dos estudos encontrou um SNP relacionado com a resistência à insulina e circunferência abdominal (CHAMBERS et al., 2008). Outro estudo, que foi realizado com 16.876 indivíduos europeus, identificou o SNP

rs17782313 (T/C), localizado a 188kb à jusante da região codificadora do gene *MC4R*, associado com o aumento do IMC em adultos e em crianças (LOOS et al., 2008).

O SNP rs17782313 apresentou associação com o aumento do IMC em diversos outros estudos (LUAN et al., 2009; LIEM et al., 2009; ZOBEL et al., 2009; MEYRE et al., 2009; CHA et al., 2009; BAUER et al., 2009). Em um estudo com indivíduos de várias faixas etárias, o SNP rs17782313 demonstrou uma maior associação com o aumento do IMC durante a infância e a adolescência, e uma associação mais fraca durante a idade adulta (HARDY et al., 2010). O efeito desse polimorfismo no aumento do IMC também mostrou estar ligado com os níveis de atividade física (XI et al., 2011). Outras associações encontradas foram com: resistência à insulina (TSCHRICHTER et al., 2011); IMC elevado em mulheres com síndrome do ovário policístico (EWENS et al., 2011); diabetes do tipo 2 e alta ingestão de gorduras em mulheres (QI et al., 2008), entre outras.

2 JUSTIFICATIVA

O câncer de mama, por ter uma alta incidência tanto em países desenvolvidos como em países em desenvolvimento, é considerado um grande problema de saúde pública. Gera prejuízos aos órgãos de saúde governamentais e principalmente às mulheres acometidas. Como é um tipo de câncer que afeta uma parte do corpo feminino que está envolvida com a sexualidade e a maternidade, a imagem pessoal da mulher é extremamente abalada, acarretando, além de consequências físicas, muitos efeitos psicológicos negativos às pacientes. Assim, é importante que sejam estudadas novas formas de prevenção, de diagnóstico e de tratamento para doenças complexas como esta.

Sabe-se que a obesidade é um dos fatores de risco para o desenvolvimento do câncer de mama após a menopausa. Devido ao fato dos polimorfismos no primeiro íntron do gene *FTO* e no gene *MC4R* terem mostrado associação com o IMC elevado e obesidade em diversos estudos, a hipótese desse trabalho foi de que esses SNPs podem apresentar também uma associação com o câncer de mama. Se uma relação desse tipo for estabelecida, esses polimorfismos poderão servir futuramente como uma ferramenta molecular na avaliação da susceptibilidade de mulheres ao câncer de mama. Os serviços de saúde pública poderiam investir em ações mais precisas na prevenção da obesidade, através de programas educacionais, por exemplo, e desta forma, contribuir para a prevenção do câncer de mama.

O estudo desses polimorfismos no Brasil também se faz necessário, visto que é um país constituído de uma população com alto índice de miscigenação. Testes de perfil genético para obesidade estão sendo disponibilizados no país, porém até o momento, não há estudos suficientes nessa população que relacionem a presença desses SNPs com IMCs elevados.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVOS GERAIS

Este trabalho teve como objetivo principal investigar a associação dos polimorfismos *FTO* rs1121980, *FTO* rs9939609 e *MC4R* rs17782313 com o câncer de mama, através de um estudo caso-controle em mulheres diagnosticadas com a doença e mulheres saudáveis do Estado de Santa Catarina. Além disso, objetivou verificar a associação desses polimorfismos com o sobrepeso e com a obesidade no grupo controle e no grupo de pacientes estudados.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar a amostra populacional do estudo quanto à ascendência, escolaridade e alguns dados epidemiológicos, como: IMC (na pré e na pós-menopausa), idade da menarca, idade da menopausa, paridade, amamentação, idade da primeira gestação, uso de anticoncepcional, uso de terapia de reposição hormonal e tabagismo.

- Caracterizar o grupo de pacientes com câncer de mama em relação ao histórico familiar da doença, estágio reprodutivo, tipo de tumor, grau de Elston e Ellis, presença de metástase em linfonodos, tamanho tumoral, presença de receptores hormonais e superexpressão da proteína HER2/*neu*.

- Investigar a relação de alguns dados clínicos e epidemiológicos com a susceptibilidade ao câncer de mama, como: IMC (na pré e na pós-menopausa), idade da menarca, idade da menopausa, paridade, amamentação, idade da primeira gestação, uso de anticoncepcional, uso de terapia de reposição hormonal e tabagismo.

- Determinar as frequências genótípicas e alélicas dos três SNPs (*FTO* rs1121980, *FTO* rs9939609 e *MC4R* rs17782313) no grupo de pacientes e no grupo controle estudados;

- Investigar a associação entre os alelos dos polimorfismos analisados e a susceptibilidade no desenvolvimento do câncer de mama;

- Verificar a combinação dos polimorfismos analisados com alguns dados epidemiológicos no risco de desenvolvimento do câncer de mama;

- Calcular o desequilíbrio de ligação entre os polimorfismos do gene *FTO* e a associação entre *loci* não ligados dos genes *FTO* e *MC4R*;

- Estimar as frequências dos haplótipos do gene *FTO* e analisar a associação com o câncer de mama;

- Verificar as interações entre os genótipos dos polimorfismos analisados e o risco no desenvolvimento do câncer de mama;
- Verificar o efeito aditivo da presença dos alelos de risco dos SNPs analisados e a associação com o câncer de mama;
- Investigar a associação entre os alelos dos polimorfismos analisados com o IMC (sobrepeso, obesidade e ambos) no grupo controle e no grupo de pacientes estudados.

4 METODOLOGIA

4.1 AMOSTRA POPULACIONAL

Este estudo faz parte de um projeto maior, em vigência, intitulado “Câncer de mama: avaliação de parâmetros informativos para diagnóstico, prognóstico e tratamento de pacientes na população do estado de Santa Catarina”. O projeto foi submetido e aprovado pelo: Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (CEP) da UFSC, sob o parecer nº 349/05, de 26/06/2006; pelo CEP da Maternidade Carmela Dutra, em 20 de Julho de 2007 e pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), sob o parecer nº. 027/2006 e registro 13312, de 24 de Janeiro de 2007, com emendas conforme cita o ofício de número 107/CEPSH/PRPE/09, da UFSC.

A amostra populacional utilizada neste trabalho faz parte do Banco de DNA do Laboratório de Polimorfismos Genéticos (LAPOGE) do Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética da UFSC, coordenado pela Prof.^a Dr.^a Ilíada Rainha de Souza.

Este é um estudo caso-controle composto por: um grupo de 100 mulheres diagnosticadas com câncer de mama, não submetidas à quimioterapia ou radioterapia, atendidas no Hospital Universitário da UFSC ou na Maternidade Carmela Dutra; e um grupo controle, constituído de 148 mulheres saudáveis, sem histórico de câncer de mama em parentes de primeiro grau, doadoras de sangue do HEMOSC ou participantes do Núcleo de Estudos da Terceira Idade (NETI) da UFSC.

As participantes dos dois grupos foram esclarecidas sobre os objetivos do projeto, o sigilo das suas informações e assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (Anexo A). Os dados familiares e epidemiológicos foram obtidos através de entrevista e preenchimento de questionários (Anexo B). Os dados clínicos das pacientes foram obtidos a partir dos prontuários médicos, dos laudos anatomopatológicos e de imuno-histoquímica.

4.2 COLETA, SEPARAÇÃO E CONSERVAÇÃO DAS AMOSTRAS

As voluntárias dos dois grupos doaram 8 ml de sangue periférico para extração de DNA e análise dos polimorfismos genéticos. As amostras de sangue foram coletadas em tubos com o anticoagulante EDTA e centrifugadas a 1006g (centrífuga *excelsa II*[®], modelo 206BL), durante 20 minutos. Separou-se o plasma, as hemácias e a camada de

leucócitos (*buffy coat*), que foram estocados a -20°C para futuras pesquisas. Parte do *buffy coat* separado foi utilizada para obtenção do DNA genômico.

4.3 EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE DNA GENÔMICO

A extração do DNA genômico foi realizada utilizando-se Proteinase-K, a partir da camada de *buffy coat*, baseado no procedimento proposto por SAMBROOK e RUSSEL (2001).

Após a extração, uma alíquota de DNA foi diluída cerca de 100 vezes e quantificada através da absorbância medida em 260nm e 280nm em espectrofotômetro (*Pharmacia Biotech*, modelo *Ultrospec 3000*). As amostras foram diluídas para uma concentração de 20ng/ μl .

4.4 GENOTIPAGEM

A genotipagem foi realizada no laboratório Biogenetika Diagnóstico Molecular e Medicina Genômica, que é localizado em Florianópolis e possui uma parceria com o LAPOGE-UFSC.

Os indivíduos foram genotipados para dois polimorfismos do gene *FTO* e um polimorfismo do gene *MC4R*. A nomenclatura dos alelos se baseou em dados da literatura, que consideram os alelos T, A e C dos SNPs *FTO* rs1121980, *FTO* rs9939609 e *MC4R* rs17782313 respectivamente como de risco para o sobrepeso e obesidade (Tabela 1).

Tabela 1 – Caracterização dos polimorfismos genéticos do tipo SNP analisados neste estudo.

Gene	SNP	Alelos possíveis	Alelo de risco
<i>FTO</i>	rs1121980	T/C	T
<i>FTO</i>	rs9939609	A/T	A
<i>MC4R</i>	rs17782313	T/C	C

Para a identificação dos polimorfismos apresentados na tabela 1, foi utilizada a técnica de Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real (*Real-time PCR*, do inglês *Polymerase Chain Reaction*). Esta técnica possui algumas vantagens em relação à PCR convencional, uma delas é permitir que a reação seja visualizada enquanto ocorre (em “*real time*”), devido à fluorescência emitida por sondas presentes na mistura de reagentes que pode ser detectada pelo aparelho, propiciando que o resultado possa ser conhecido logo após o término do processo de PCR em tempo real. Assim, o processamento pós-PCR é dispensado, o que

reduz o risco de contaminação do produto e aumenta a eficácia e rapidez da reação.

A técnica de PCR em tempo real foi realizada com a utilização do equipamento StepOne™ da Applied Biosystems. Para a identificação dos polimorfismos foram utilizadas sondas de sequência específica do tipo Taqman®. Dois tipos de sondas, com fluorescências de comprimento de onda diferentes, foram colocadas em solução: VIC® e FAM™. Cada sonda identifica um alelo diferente do polimorfismo através de complementaridade de bases (Tabela 2).

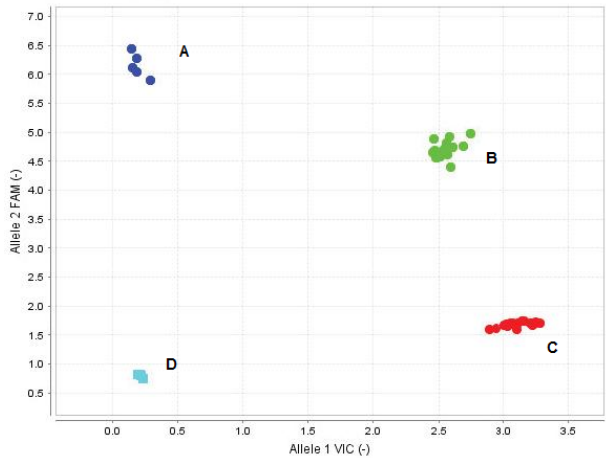
Tabela 2 – Sequências das sondas fluorescentes VIC® e FAM™ para cada SNP analisado.

Gene SNP	Sonda [VIC®/FAM™]
<i>FTO</i> rs1121980	5'TCCTAGTCACGTGTCTTGGTACTAT[A/G]TGAGATTTTCAGATCCACCTGCCTAC3'
<i>FTO</i> rs9939609	5'AGGTTTCCTTGCGACTGCTGTGAATTT[A/T]GTGATGCACTTGGATAGTCTCTGTT3'
<i>MC4R</i> rs17782313	5'GTTTAAAGCAGGAGAGATTGTATCC[C/T]GATGGAAATGACAAGAAAAGCTTCA3'

Fonte: Applied Biosystems (2007).

Os resultados verificados pelo aparelho foram obtidos em forma de gráficos (Figura 3), o que possibilitou a análise dos genótipos de cada indivíduo da amostra.

Figura 3 – Modelo de gráfico obtido após a PCR em Tempo Real.



Eixo “X”, presença do alelo 1, identificado através da emissão de fluorescência pela sonda VIC®. Eixo “Y”, presença do alelo 2, identificado através da emissão de fluorescência pela sonda FAM™. A: indivíduos homozigotos para o alelo 2; B: indivíduos heterozigotos; C: indivíduos homozigotos para o alelo 1; D: controles negativos.

Fonte: Modificado de Applied Biosystems (2007).

Os reagentes utilizados nas reações foram adquiridos de kits comerciais da Applied Biosystems e os protocolos foram elaborados de acordo com as instruções do fabricante (Quadro 1).

Quadro 1 – Reagentes e volumes utilizados no protocolo de genotipagem dos SNPs.

Reagente	Volume para uma amostra
Master Mix Universal TaqMan®	10,0 µl
TaqMan® SNP Genotyping Assay	1,0 µl
Água ultrapura	7,0 µl
DNA genômico	2,0 µl
Volume Total	20,0 µl

O tampão e a Taq Polimerase estavam inclusos no *Master Mix Universal TaqMan®*. Para a identificação dos SNPs foram utilizados os ensaios *TaqMan® SNP Genotyping Assay*, com os códigos: C_2031261_10 para o SNP rs1121980; C_30090620_10 para o rs9939609 e C_32667060_10 para o rs17782313. Os reagentes inclusos

nesses kits são: oligonucleotídeos iniciadores *Forward* (F) e *Reverse* EM e sondas (VIC®/FAM™) específicas para cada SNP.

As temperaturas e o tempo de cada ciclo das reações de PCR em tempo real foram adaptadas das instruções do fabricante: 1 ciclo de 60°C por 30 segundos; 1 ciclo de 95°C por 10 minutos; 1 ciclo de 92°C por 15 segundos; 50 ciclos de 60°C por 1 minuto e 30 segundos; 1 ciclo de 60°C por 30 segundos.

4.5 ANÁLISE E TRATAMENTO DOS DADOS

Os indivíduos do grupo controle e do grupo de pacientes foram classificados quanto à ascendência e à escolaridade, de acordo com o que declararam nos questionários sobre: a origem geográfica de seus avós maternos e paternos; e o nível de estudos que possuem (ensino fundamental, médio e superior).

Através do software GenePop (disponível em <47ign://genepop.curtin.edu.au/>), foram realizados os seguintes cálculos: o teste do Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW); as frequências alélicas e frequências genotípicas, tanto para o grupo de pacientes como para o grupo controle; o desequilíbrio de ligação entre os SNPs do gene *FTO* e a associação entre *loci* não ligados dos SNPs dos genes *FTO* e *MC4R*.

Através do software HAPSTAT, versão 3.0, as frequências dos haplótipos do gene *FTO* foram estimadas e suas associações com o câncer de mama foram calculadas.

O teste de *Odds Ratio* (OR), ou razão de chances, foi realizado para as análises de associação. Este teste foi realizado através de regressão logística binária, com o uso do programa SPSS (versão 12.0), assumindo-se intervalo de confiança (IC) de 95% e valor de *p* significativo quando menor ou igual a 0,05. O programa SPSS também foi utilizado para o cálculo do teste *t* de Student.

As análises de OR para a susceptibilidade ao câncer de mama foram realizadas para as seguintes características:

- Presença dos polimorfismos, através de quatro modelos em relação aos alelos de risco (Tabela 3).
- Sobrepeso, quando $IMC \geq 25$ e < 30 ;
- Obesidade, quando $IMC \geq 30$;
- Sobrepeso e obesidade, quando $IMC \geq 25$;
- Obesidade, sobrepeso e ambos em mulheres na pré e na pós-menopausa;

- Menarca precoce, quando ≤ 12 anos;
- Menopausa tardia, com idade ≥ 50 ;
- Nuliparidade (ausência de gestação);
- Primeira gestação tardia, quando ≥ 30 anos;
- Ausência de amamentação;
- Uso de anticoncepcional nos últimos 10 anos;
- Uso de terapia de reposição hormonal nos últimos 5 anos;
- Tabagismo (atualmente);

Tabela 3 – Caracterização dos modelos de análise de associação para cada SNP.

Gene SNP	Modelo dominante	Modelo recessivo	Comparação de homozigoto	Comparação de heterozigoto
<i>FTO</i> rs1121980	TT x TC e CC	TT e TC x CC	TT x CC	TC x CC
<i>FTO</i> rs9939609	AA x AT e TT	AA e AT x TT	AA x TT	AT x TT
<i>MC4R</i> rs17782313	CC x TC e TT	CC e TC x TT	CC x TT	TC x TT

O teste de OR para a presença dos polimorfismos aliada a essas características citadas também foi calculado.

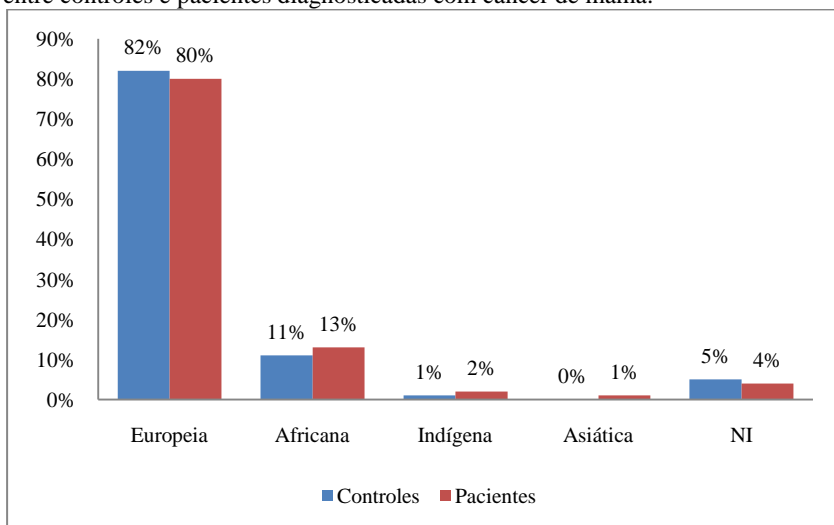
Analizou-se ainda, a associação dos três polimorfismos com o sobrepeso, obesidade e ambos na população controle e no grupo de pacientes estudados.

5 RESULTADOS

5.1 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA POPULACIONAL E ANÁLISE DOS DADOS EPIDEMIOLÓGICOS

Os indivíduos dos dois grupos foram classificados quanto à origem geográfica (Gráfico 1). Observou-se um predomínio de indivíduos de origem europeia nos dois grupos, seguido de uma frequência menor de origem africana e uma frequência muito baixa de indivíduos de origem indígena e asiática. Houve, ainda, uma porcentagem de indivíduos que não declararam essa informação (NI). Estes resultados estão de acordo com o histórico da colonização do estado de Santa Catarina, que ocorreu predominantemente por europeus.

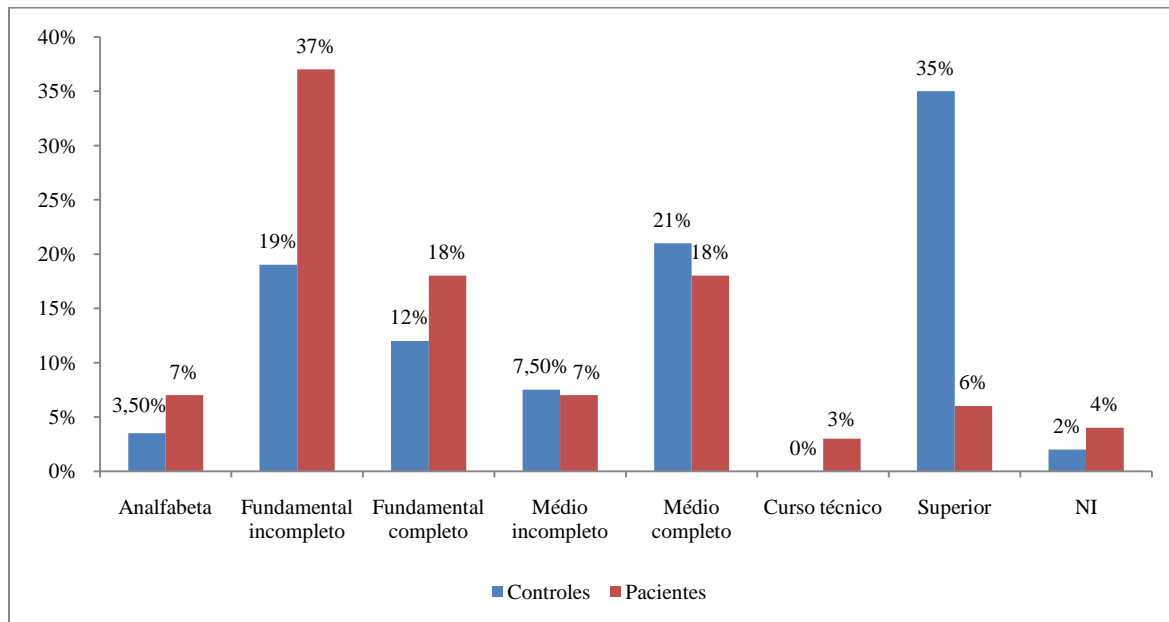
Gráfico 1 – Classificação e distribuição das frequências de origem geográfica entre controles e pacientes diagnosticadas com câncer de mama.



Os indivíduos também foram classificados quanto à escolaridade (Gráfico 2). Observou-se uma discrepância entre os dois grupos. Há uma proporção maior de mulheres no grupo controle que possuem uma escolaridade mais elevada em relação ao grupo de pacientes. Estes dados apontam para diferenças de acesso ao conhecimento entre as mulheres dos dois grupos, o que pode fornecer um viés às futuras análises. As dificuldades de acesso ao ensino, principalmente ao ensino superior, podem ser explicadas pela baixa renda das pacientes, o que é

evidenciado por serem usuárias do sistema de saúde pública. A maioria das mulheres que constituem o grupo controle faz parte do NETI, o que demonstra a relação dessas mulheres com a universidade e consequentemente com o conhecimento.

Gráfico 2 – Classificação e distribuição das frequências de escolaridade entre controles e pacientes diagnosticadas com câncer de mama.



Na tabela 4 estão apresentadas as características epidemiológicas do grupo de pacientes e do grupo controle, assim como as análises de associação com o câncer de mama.

Em relação à idade, os indivíduos dos dois grupos foram divididos em classes de 10 anos. A maioria das mulheres está na faixa entre 44 e 53 anos e as classes de idade tiveram uma porcentagem de indivíduos relativamente semelhante. As médias das idades entre os dois grupos não mostraram diferenças significativas pelo teste *t* de Student.

Os dados epidemiológicos que mostraram associação significativa com o câncer de mama estão apresentados na tabela 4, porém, algumas dessas associações mostraram resultados espúrios, o que será discutido adiante.

Tabela 4 – Caracterização epidemiológica da amostra populacional (grupo controle e grupo de pacientes diagnosticadas com câncer de mama) e análise de OR para susceptibilidade ao câncer de mama.

CARACTERÍSTICA	Pacientes n=100 (%)	Controles n=148 (%)	OR (95% IC)	<i>p</i>
Média de idade	53,89	52,11		0,304^a
CLASSES DE IDADES				
24 – 33 anos	8 (8%)	10 (7%)		
34 – 43 anos	17 (17%)	21 (14%)		
44 – 53 anos	30 (30%)	47 (32%)		
54 – 63 anos	22 (22%)	48 (32%)		
64 – 73 anos	12 (12%)	16 (11%)		
≥74 anos	11 (11%)	6 (4%)		
IMC				
IMC ≥ 30 (obesidade)	22 (22%)	26 (18%)	1,323 (0,701-2,497)	0,387
25 ≤ IMC < 30 (sobrepeso)	40 (40%)	40 (27%)	1,078 (0,643-1,809)	0,775
IMC ≥ 25 (sobrepeso e obesidade)	62 (62%)	66 (45%)	1,297 (0,771-2,182)	0,327
IMC < 25	38 (38%)	82 (55%)		
IDADE DA MENARCA				
<12 anos	20 (20%)	15 (10%)	2,239 (1,084-4,627)	0,029^b
≥12 anos	78 (78%)	131 (89%)		
NI	2 (2%)	2 (1%)		
IDADE DA MENOPAUSA				
≥50 anos	25 (25%)	38 (26%)	1,167 (0,597-2,280)	0,651

<50 anos	31 (31%)	55 (37%)		
NI ou pré-menopausa	44 (44%)	55 (37%)		
PARIDADE				
0 (nulípara)	13 (13%)	18 (12%)	1,054 (0,491-2,263)	0,892
1 ou mais filhos	87 (87%)	127 (86%)		
NI	0 (0%)	3 (2%)		
AMAMENTAÇÃO				
Não	25 (25%)	27 (18%)	1,407 (0,759-2,609)	0,278
Sim	75 (75%)	114 (77%)		
NI	0 (0%)	7 (5%)		
IDADE DA 1ª GESTAÇÃO				
>30 anos	5 (5%)	13 (9%)	0,553 (0,190-1,612)	0,278
≤30 anos	82 (82%)	118 (80%)		
NI ou nulípara	13 (13%)	17 (11%)		
USO DE ANTICONCEPCIONAL NOS ÚLTIMOS 10 ANOS				
Sim	25 (25%)	90 (61%)	0,217 (0,120-0,394)	0,000^b
Não	55 (55%)	43 (29%)		
NI	20 (20%)	15 (10%)		
USO DE TERAPIA DE REPOSIÇÃO HORMONAL NOS ÚLTIMOS 5 ANOS				
Sim	8 (8%)	34 (23%)	0,187 (0,081-0,428)	0,000^b
Não	92 (92%)	73 (49%)		
NI	0 (0%)	41 (28%)		
TABAGISMO				
Fumante	13 (13%)	16 (11%)	1,228 (0,563-2,682)	0,606
Não fumante	86 (86%)	130 (88%)		
NI	1 (1%)	2 (1%)		

^a Valor de *p* referente ao teste *t* de Student, significativo quando ≤0,05

^b Valor de *p* referente ao teste de OR, significativo quando ≤0,05

NI: Não informado

Em negrito: valores significativos.

Como a obesidade é considerada um fator de risco para o câncer de mama dependente do estágio reprodutivo da mulher, foram realizadas análises de associação de sobrepeso, de obesidade e de ambas as características (sobrepeso e obesidade) entre mulheres que estão nas fases de pré-menopausa e de pós-menopausa (Tabela 5). Não foram

encontradas associações significativas com o IMC, em mulheres na pré-menopausa, nem naquelas que estão na pós-menopausa.

Tabela 5 – Análise de associação de IMC com o câncer de mama em mulheres nas fases de pré-menopausa e na pós-menopausa.

		Pacientes	Controles	OR	<i>p</i> ^a
		n = 100 (%)	n = 148 (%)	(95% IC)	
		n = 42	n = 40		
Pré-menopausa	Obesidade	9 (21%)	5 (13%)	1,909 (0,580-6,289)	0,288
	Sobrepeso	12 (29%)	11 (28%)	1,055 (0,402-2,766)	0,914
	Sobrepeso e obesidade	21 (50%)	16 (40%)	1,500 (0,625-3,599)	0,364
	IMC<25	21 (50%)	24 (60%)		
		n = 58	n = 93		
Pós-menopausa	Obesidade	13 (22%)	17 (18%)	1,292 (0,574-2,905)	0,536
	Sobrepeso	29 (50%)	41 (44%)	1,268 (0,657-2,448)	0,479
	Sobrepeso e obesidade	42 (72%)	58 (62%)	1,584 (0,777-3,230)	0,206
	IMC<25	16 (28%)	35 (38%)		
NI		0 (0%)	15 (10%)		

NI: Não informado

5.1.1 Caracterização Clinicopatológica das Pacientes com Câncer de Mama

As pacientes foram caracterizadas quanto ao histórico familiar de câncer de mama em parentes de primeiro grau (mãe, irmã ou filha) e quanto às características do tumor (Tabela 6). Os dados que não foram obtidos através dos laudos anatomopatológicos e de imuno-histoquímica estão indicados como Não Informados (NI). Os dados que não são aplicáveis a algumas características estão representados como Não Aplicáveis (NA).

Devido a grande parte dos dados terem apresentado alto índice de NI, estas características não foram incluídas nas análises de associação com os polimorfismos.

Tabela 6 – Caracterização das pacientes com câncer de mama.

CARACTERÍSTICA	n=100
HISTÓRICO FAMILIAL	
Sim	15
Não	83
NI	2
ESTÁGIO REPRODUTIVO	
Pós-menopausa	58
Pré-menopausa	42
TIPO DE TUMOR	
Carcinoma Ductal Invasivo (CDI)	66
Carcinoma Lobular Invasivo (CLI)	7
CDI e CLI	1
Outros	17
NI	9
GRAU DE ELSTON E ELLIS	
1	9
2	32
3	29
NI ou NA	30
COMPROMETIMENTO DE LINFONODO	
Sim	44
Não	34
NI ou NA	22
TAMANHO DO TUMOR	
Tis	7
T1	37
T2	33
T3	7
NI ou NA	16
RECEPTOR DE ESTRÓGENO	
Positivo	59
Negativo	20
NI ou NA	21
RECEPTOR DE PROGESTERONA	
Positivo	48
Negativo	29
NI ou NA	23
HER2/neu	
Positivo	22
Negativo	53
NI ou NA	25

NI: Não Informado

NA: Não se aplica

5.2 ANÁLISES DOS SNPs DOS GENES *FTO* E *MC4R* E SUAS ASSOCIAÇÕES COM O CÂNCER DE MAMA

Para cada SNP foram determinadas: as frequências genótípicas; as frequências alélicas; se as frequências genótípicas dos dois grupos estão em EHW; a associação com o câncer de mama; a associação com o câncer de mama em conjunto com alguns dados epidemiológicos.

As características “uso de anticoncepcional nos últimos 10 anos” e “uso de terapia de reposição hormonal nos últimos 5 anos” não foram analisadas juntamente com os SNPs, pois mostraram resultados espúrios na primeira análise (será discutido adiante).

5.2.1 SNP *FTO* rs1121980

As frequências genótípicas e alélicas observadas para o SNP *FTO* rs1121980 em controles e em pacientes estão descritas na tabela 7. As frequências genótípicas nos dois grupos estão em EHW. O alelo de risco (T) apresentou uma maior frequência no grupo controle.

Tabela 7 – Frequências genótípicas (TT, TC, CC), frequências alélicas (T e C) e verificação do EHW do SNP *FTO* rs1121980, no grupo controle e no grupo de pacientes diagnosticadas com câncer de mama.

Grupo	<i>FTO</i> rs1121980					<i>p</i> ^a
	TT (%)	TC (%)	CC (%)	T*	C	
Controles	32 (22%)	70 (47%)	46 (31%)	0,45	0,55	0,62
Pacientes	16 (16%)	47 (47%)	37 (37%)	0,40	0,60	0,84

* Alelo de risco para obesidade

^a Valor de *p* referente ao teste de EHW

As análises de associação do SNP *FTO* rs1121980 com o câncer de mama estão apresentadas na tabela 8. Não foram observadas associações significativas em nenhum dos modelos analisados.

Tabela 8 – Valores de OR do SNP *FTO* rs1121980 com o câncer de mama.

<i>FTO</i> rs1121980		
Modelo	OR (IC)	<i>p</i> ^a
Modelo Recessivo	0,690 (0,356-1,339)	0,273
Modelo Dominante	0,768 (0,450-1,311)	0,333
Comparação de homozigoto	0,622 (0,297-1,303)	0,208
Comparação de heterozigoto	0,835 (0,472-1,475)	0,534

^a Valor de *p* significativo quando ≤0,05

As análises de associação do SNP *FTO* rs1121980 em conjunto com o sobrepeso, obesidade e ambos, com o câncer de mama, estão descritas na tabela 9, nenhuma associação significativa foi observada.

Na tabela 10 estão apresentados os resultados da associação do SNP *FTO* rs1121980, aliado a alguns dados epidemiológicos, com o câncer de mama. Nenhuma associação significativa foi encontrada.

A obesidade, o sobrepeso e ambos, em conjunto com o SNP *FTO* rs1121980, foram analisados entre mulheres que estão na pré-menopausa (Tabela 11) e na pós-menopausa (Tabela 12). Algumas dessas análises não foram realizadas devido ao baixo número amostral na categoria em questão, casos como esses estão indicados como ND (não determinado). Nenhuma associação significativa foi encontrada nas duas análises.

Tabela 9 – Análise de associação de IMC e do SNP *FTO* rs1121980, com o câncer de mama através de quatro modelos estatísticos.

	SNP <i>FTO</i> rs1121980							
	Modelo Recessivo		Modelo Dominante		Comparação de homozigoto		Comparação de heterozigoto	
	OR (IC)	p^a	OR (IC)	p^a	OR (IC)	p^a	OR (IC)	p^a
Obesidade	0,986 (0,271-3,587)	0,983	1,254 (0,588-2,677)	0,558	0,980 (0,263-3,653)	0,976	1,290 (0,521-3,194)	0,582
Sobrepeso	0,663 (0,243-1,806)	0,421	0,870 (0,488-1,551)	0,637	0,638 (0,226-1,802)	0,396	0,919 (0,472-1,786)	0,803
Sobrepeso e obesidade	0,754 (0,335-1,699)	0,496	0,992 (0,590-1,669)	0,976	0,722 (0,305-1,708)	0,459	1,041 (0,576-1,882)	0,894

^a Valor de p significativo quando $\leq 0,05$

Tabela 10 – Análise de associação do SNP *FTO* rs1121980 em conjunto com os dados epidemiológicos, com o câncer de mama através de quatro modelos estatísticos.

	SNP <i>FTO</i> rs1121980							
	Modelo Recessivo		Modelo Dominante		Comparação de homozigoto		Comparação de heterozigoto	
	OR (IC)	p^a	OR (IC)	p^a	OR (IC)	p^a	OR (IC)	p^a
Menarca precoce	1,121 (0,245-5,122)	0,883	1,545 (0,618-3,865)	0,352	1,117 (0,240-5,212)	0,888	1,696 (0,548-5,246)	0,359
Menopausa tardia	0,528 (0,137-2,040)	0,355	0,520 (0,241-1,121)	0,095	0,481 (0,119-1,944)	0,305	0,470 (0,195-1,129)	0,091
Nuliparidade	1,090 (0,239-4,980)	0,911	1,231 (0,510-2,971)	0,643	1,095 (0,235-5,106)	0,908	1,205 (0,419-3,463)	0,730
Não amamentação	1,803 (0,472-6,888)	0,389	1,603 (0,794-3,238)	0,188	1,823 (0,465-7,139)	0,389	1,386 (0,621-3,090)	0,425
1ª gestação tardia	0,369 (0,041-3,360)	0,376	1,214 (0,317-4,655)	0,777	0,367 (0,040-3,389)	0,377	4,225 (0,431-41,456)	0,216
Tabagismo	2,250 (0,369-13,717)	0,379	1,903 (0,758-4,778)	0,171	2,220 (0,358-13,768)	0,392	1,630 (0,567-4,689)	0,364

^a Valor de p significativo quando $\leq 0,05$

Tabela 11 – Análise de associação de IMC e do SNP *FTO* rs1121980, com o câncer de mama em mulheres na pré-menopausa através de quatro modelos estatísticos.

	SNP <i>FTO</i> rs1121980							
	Modelo Recessivo		Modelo Dominante		Comparação de homozigoto		Comparação de heterozigoto	
	OR (IC)	<i>p</i> ^a	OR (IC)	<i>p</i> ^a	OR (IC)	<i>p</i> ^a	OR (IC)	<i>p</i> ^a
Obesidade	ND	ND	6,500 (0,746-56,641)	0,090	ND	ND	4,414 (0,466-41,801)	0,196
Sobrepeso	1,950 (0,170-22,387)	0,592	0,800 (0,261-2,457)	0,697	2,000 (0,168-23,863)	0,584	0,663 (0,187-2,352)	0,525
Sobrepeso e obesidade	4,105 (0,439-38,423)	0,216	1,544 (0,574-4,153)	0,389	4,444 (0,454-43,537)	0,200	1,172 (0,388-3,538)	0,778

^a Valor de *p* significativo quando ≤0,05

ND Não determinado

Tabela 12 – Análise de associação de IMC e do SNP *FTO* rs1121980, com o câncer de mama em mulheres na pós-menopausa através de quatro modelos estatísticos.

	SNP <i>FTO</i> rs1121980							
	Modelo Recessivo		Modelo Dominante		Comparação de homozigoto		Comparação de heterozigoto	
	OR (IC)	<i>p</i> ^a	OR (IC)	<i>p</i> ^a	OR (IC)	<i>p</i> ^a	OR (IC)	<i>p</i> ^a
Obesidade	0,518 (0,101-2,657)	0,430	0,903 (0,353-2,307)	0,831	0,483 (0,091-2,561)	0,392	1,050 (0,341-3,236)	0,932
Sobrepeso	0,691 (0,203-2,357)	0,555	0,993 (0,489-2,017)	0,985	0,642 (0,179-2,300)	0,496	0,965 (0,432-2,155)	0,930
Sobrepeso e obesidade	0,600 (0,219-1,647)	0,321	0,945 (0,489-1,826)	0,866	0,528 (0,179-1,555)	0,246	0,991 (0,474-2,069)	0,980

^a Valor de *p* significativo quando ≤0,05

5.2.2 SNP *FTO* rs9939609

Na tabela 13 estão descritas as frequências genótípicas e alélicas do SNP *FTO* rs9939609 no grupo controle e no grupo de pacientes. As frequências genótípicas das duas populações estão em EHW. Uma maior frequência do alelo de risco (A) foi encontrada no grupo controle.

Tabela 13 – Frequências genótípicas (AA, AT, TT), frequências alélicas (A e T) e verificação do EHW do SNP *FTO* rs9939609, no grupo controle e no grupo de pacientes diagnosticadas com câncer de mama.

Grupo	<i>FTO</i> rs9939609					p^a
	AA (%)	AT (%)	TT (%)	A*	T	
Controles	22 (15%)	78 (53%)	48 (32%)	0,41	0,59	0,31
Pacientes	13 (13%)	50 (50%)	37 (37%)	0,38	0,62	0,67

* Alelo de risco para obesidade

^a Valor de p referente ao teste de EHW

Os resultados das análises de OR do SNP *FTO* rs9939609 com o câncer de mama estão apresentados na tabela 14. Não foram encontradas associações significativas.

Tabela 14 – Valores de OR do SNP *FTO* rs9939609 com o câncer de mama.

<i>FTO</i> rs9939609		
Modelo	OR (IC)	p^a
Modelo Recessivo	0,856 (0,409-1,790)	0,679
Modelo Dominante	0,817 (0,480-1,392)	0,457
Comparação de homozigoto	0,767 (0,341-1,721)	0,519
Comparação de heterozigoto	0,832 (0,477-1,451)	0,516

^a Valor de p significativo quando $\leq 0,05$

Na tabela 15 estão descritas as análises de associação do SNP *FTO* rs9939609 em conjunto com o sobrepeso, a obesidade e ambos, com o câncer de mama. Não foi observada nenhuma associação significativa nestas análises.

Na tabela 16 estão apresentados os resultados de associação do SNP *FTO* rs9939609 e alguns dados epidemiológicos com o câncer de mama. Nenhuma associação significativa foi encontrada.

O SNP *FTO* rs9939609 em conjunto com a obesidade, sobrepeso e ambos, foram analisados entre mulheres que estão nas fases de pré-menopausa (Tabela 17) e de pós-menopausa (Tabela 18). Nenhuma associação significativa foi observada.

Tabela 15 – Análise de associação de IMC e do SNP *FTO* rs9939609 com câncer de mama através de quatro modelos estatísticos.

	SNP <i>FTO</i> rs9939609							
	Modelo Recessivo		Modelo Dominante		Comparação de homozigoto		Comparação de heterozigoto	
	OR (IC)	p^a	OR (IC)	p^a	OR (IC)	p^a	OR (IC)	p^a
Obesidade	1,192 (0,312-4,551)	0,798	1,376 (0,665-2,847)	0,390	1,130 (0,288-4,440)	0,861	1,391 (0,602-3,212)	0,440
Sobrepeso	0,986 (0,340-2,862)	0,979	0,853 (0,475-1,530)	0,593	0,924 (0,307-2,786)	0,889	0,799 (0,414-1,544)	0,505
Sobrepeso e obesidade	1,063 (0,453-2,499)	0,888	1,034 (0,616-1,738)	0,898	1,000 (0,404-2,478)	1,000	0,981 (0,552-1,742)	0,947

^a Valor de p significativo quando $\leq 0,05$

Tabela 16 – Análise do SNP *FTO* rs9939609 e dados epidemiológicos com o câncer de mama através de quatro modelos estatísticos.

	SNP <i>FTO</i> rs9939609							
	Modelo Recessivo		Modelo Dominante		Comparação de homozigoto		Comparação de heterozigoto	
	OR (IC)	p^a	OR (IC)	p^a	OR (IC)	p^a	OR (IC)	p^a
Menarca precoce	2,274 (0,373-13,863)	0,373	1,720 (0,701-4,219)	0,237	2,185 (0,351-13,594)	0,402	1,519 (0,547-4,219)	0,422
Menopausa tardia	0,652 (0,122-3,478)	0,616	0,457 (0,203-1,027)	0,058	0,543 (0,098-3,004)	0,484	0,411 (0,169-1,004)	0,051
Nuliparidade	1,464 (0,289-7,405)	0,645	1,128 (0,474-2,684)	0,785	1,404 (0,271-7,264)	0,686	0,998 (0,364-2,731)	0,996
Não amamentação	3,658 (0,695-19,247)	0,126	1,239 (0,613-2,506)	0,551	3,611 (0,671-19,440)	0,135	0,907 (0,412-1,996)	0,808
1ª gestação tardia	ND	ND	1,004 (0,275-3,667)	0,995	ND	ND	1,954 (0,425-8,992)	0,390
Tabagismo	2,250 (0,369-13,717)	0,379	1,938 (0,737-5,098)	0,180	2,106 (0,339-13,103)	0,424	1,743 (0,565-5,379)	0,334

^a Valor de p significativo quando $\leq 0,05$

ND Não determinado

Tabela 17 – Análise de associação de IMC e do SNP *FTO* rs9939609 com o câncer de mama em mulheres na pré-menopausa através de quatro modelos estatísticos..

	SNP <i>FTO</i> rs9939609							
	Modelo Recessivo		Modelo Dominante		Comparação de homozigoto		Comparação de heterozigoto	
	OR (IC)	p^a	OR (IC)	p^a	OR (IC)	p^a	OR (IC)	p^a
Obesidade	ND	ND	3,800 (0,739-19,534)	0,196	ND	ND	2,750 (0,496-15,246)	0,247
Sobrepeso	1,950 (0,170-22,387)	0,592	0,800 (0,261-2,457)	0,697	2,118 (0,176-25,549)	0,555	0,667 (0,190-2,345)	0,528
Sobrepeso e obesidade	4,105 (0,439-38,423)	0,216	1,500 (0,574-3,922)	0,408	4,800 (0,483-47,682)	0,181	1,156 (0,402-3,318)	0,788

^a Valor de p significativo quando $\leq 0,05$

ND Não determinado

Tabela 18 – Análise de associação de IMC e do SNP *FTO* rs9939609 com o câncer de mama em mulheres na pós-menopausa através de quatro modelos estatísticos..

	SNP <i>FTO</i> rs9939609							
	Modelo Recessivo		Modelo Dominante		Comparação de homozigoto		Comparação de heterozigoto	
	OR (IC)	p^a	OR (IC)	p^a	OR (IC)	p^a	OR (IC)	p^a
Obesidade	0,622 (0,118-3,351)	0,587	1,036 (0,417-2,575)	0,939	0,524 (0,095-2,897)	0,459	1,210 (0,421-3,479)	0,724
Sobrepeso	1,304 (0,335-5,068)	0,702	0,963 (0,469-1,974)	0,917	1,126 (0,276-4,585)	0,869	0,812 (0,367-1,795)	0,606
Sobrepeso e obesidade	0,958 (0,329-2,792)	0,937	0,987 (0,510-1,907)	0,968	0,792 (0,254-2,471)	0,688	0,918 (0,448-1,880)	0,815

^a Valor de p significativo quando $\leq 0,05$

ND Não determinado

5.2.3 SNP *MC4R* rs17782313

As frequências genótípicas e alélicas do SNP *MC4R* rs17782313 no grupo controle e no grupo de pacientes estão representadas na tabela 19. Os dois grupos mostraram frequências genótípicas de acordo com o EHW. Para este SNP, o alelo de risco (C) mostrou maior frequência no grupo de pacientes.

Tabela 19 – Frequências genótípicas (TT, TC, CC), frequências alélicas T e C) e verificação do EHW do SNP *MC4R* rs17782313, no grupo controle e no grupo de pacientes diagnosticadas com câncer de mama.

Grupo	<i>MC4R</i> rs17782313					p^a
	TT	TC	CC	T	C*	
Controles	107 (72%)	38 (26%)	3 (2%)	0,85	0,15	1,00
Pacientes	60 (60%)	34 (34%)	6 (6%)	0,77	0,23	0,78

* Alelo de risco para obesidade

^a Valor de p referente ao teste de EHW

Na tabela 20 estão descritos os resultados das análises de OR do SNP *MC4R* rs17782313 com o câncer de mama. A presença do alelo de risco (modelo dominante) apresentou uma associação significativa com o câncer de mama (OR = 1,740; IC95% 1,016-2,980; $p = 0,044$).

Tabela 20 – Valores de OR do SNP *MC4R* rs17782313 com o câncer de mama através de quatro modelos estatísticos.

<i>MC4R</i> rs17782313		
Modelo	OR (IC)	p^a
Modelo Recessivo	3,085 (0,753-12,636)	0,117
Modelo Dominante	1,740 (1,016-2,980)	0,044*
Comparação de homozigoto	3,567 (0,861-14,778)	0,080
Comparação de heterozigoto	1,596 (0,911-2,794)	0,102

^a Valor de p significativo quando $\leq 0,05$

Na tabela 21 estão descritas as análises de associação do SNP *MC4R* rs17782313 em conjunto com o sobrepeso, obesidade e ambos, com o câncer de mama. Nenhuma associação significativa foi observada.

Na tabela 22 estão apresentados os resultados de associação do SNP *MC4R* rs17782313 aliado a alguns dados epidemiológicos com o câncer de mama. Nenhuma associação significativa foi encontrada.

A obesidade, o sobrepeso e ambos, em conjunto com o SNP *MC4R* rs17782313, foram analisados entre mulheres que estão nas fases de pré-menopausa (Tabela 23) e de pós-menopausa (Tabela 24). No grupo das mulheres que estão na fase de pós-menopausa, foram encontradas duas associações significativas com o sobrepeso: no modelo dominante (OR 2,772; IC95% 1,057-7,267; $p=0,038$) e na comparação de heterozigoto (OR 3,256; IC95% 1,109-9,557; $p=0,032$).

Tabela 21 – Análise de associação de IMC e do SNP *MC4R* rs17782312 com o câncer de mama através de quatro modelos estatísticos.

	SNP <i>MC4R</i> rs17782313							
	Modelo Recessivo		Modelo Dominante		Comparação de homozigoto		Comparação de heterozigoto	
	OR (IC)	p^a	OR (IC)	p^a	OR (IC)	p^a	OR (IC)	p^a
Obesidade	1,485 (0,092-24,018)	0,781	1,343 (0,500-3,608)	0,559	1,677 (0,103-27,269)	0,716	1,378 (0,482-3,935)	0,549
Sobrepeso	1,490 (0,203-10,754)	0,693	1,978 (0,906-4,319)	0,087	1,687 (0,232-12,274)	0,605	2,132 (0,923-4,922)	0,076
Sobrepeso e obesidade	1,495 (0,296-7,560)	0,627	1,809 (0,949-3,446)	0,072	1,698 (0,333-8,671)	0,524	1,908 (0,962-3,782)	0,064

^a Valor de p significativo quando $\leq 0,05$

Tabela 22 – Análise de associação do SNP *MC4R* rs17782313 em conjunto com os dados epidemiológicos, com o câncer de mama através de quatro modelos estatísticos.

	SNP <i>MC4R</i> rs17782313							
	Modelo Recessivo		Modelo Dominante		Comparação de homozigoto		Comparação de heterozigoto	
	OR (IC)	p^a	OR (IC)	p^a	OR (IC)	p^a	OR (IC)	p^a
Menarca precoce	1,500 (0,208-10,831)	0,688	2,731 (0,777-9,592)	0,117	1,726 (0,237-12,559)	0,590	4,052 (0,769-21,340)	0,099
Menopausa tardia	1,685 (0,231-12,312)	0,607	2,035 (0,736-5,624)	0,171	1,973 (0,267-14,571)	0,505	2,227 (0,705-7,033)	0,172
Nuliparidade	ND	ND	1,219 (0,362-4,110)	0,749	ND	ND	1,539 (0,433-5,470)	0,505
Não amamentação	ND	ND	1,847 (0,702-4,860)	0,214	ND	ND	2,245 (0,823-6,126)	0,114
1ª gestação tardia	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Tabagismo	ND	ND	1,490 (0,294-7,535)	0,630	ND	ND	1,556 (0,307-7,877)	0,593

^a Valor de p significativo quando $\leq 0,05$

ND Não determinado

Tabela 23 – Análise de associação de IMC e do SNP *MC4R* rs17782313 com o câncer de mama em mulheres na pré-menopausa através de quatro modelos estatísticos.

	SNP <i>MC4R</i> rs17782313							
	Modelo Recessivo		Modelo Dominante		Comparação de homozigoto		Comparação de heterozigoto	
	OR (IC)	p^a	OR (IC)	p^a	OR (IC)	p^a	OR (IC)	p^a
Obesidade	ND	ND	2,000 (0,345-11,578)	0,439	ND	ND	2,054 (0,355-11,900)	0,422
Sobrepeso	ND	ND	0,947 (0,220-4,075)	0,942	ND	ND	0,973 (0,226-4,189)	0,971
Sobrepeso e obesidade	ND	ND	1,333 (0,418-4,255)	0,627	ND	ND	1,374 (0,430-4,390)	0,592

^a Valor de p significativo quando $\leq 0,05$

ND Não determinado

Tabela 24 – Análise de associação de IMC e do SNP *MC4R* rs17782313 com o câncer de mama em mulheres na pós-menopausa através de quatro modelos estatísticos.

	SNP <i>MC4R</i> rs17782313							
	Modelo Recessivo		Modelo Dominante		Comparação de homozigoto		Comparação de heterozigoto	
	OR (IC)	p^a	OR (IC)	p^a	OR (IC)	p^a	OR (IC)	p^a
Obesidade	1,614 (0,099-26,316)	0,737	1,074 (0,290-3,980)	0,915	1,850 (0,113-30,373)	0,667	1,020 (0,234-4,451)	0,979
Sobrepeso	1,625 (0,223-11,864)	0,632	2,772 (1,057-7,267)	0,038*	1,872 (0,254-13,805)	0,539	3,256 (1,109-9,557)	0,032*
Sobrepeso e obesidade	1,636 (0,319-8,394)	0,555	2,150 (0,957-4,828)	0,064	1,895 (0,365-9,845)	0,447	2,334 (0,960-5,675)	0,062

^a Valor de p significativo quando $\leq 0,05$

5.3 ANÁLISES DE INTERAÇÕES ENTRE OS SNPs DOS GENES *FTO* E *MC4R*

5.3.1 Desequilíbrio de Ligação e Associação entre *Loci* Não Ligados

Foram realizados os cálculos de desequilíbrio de ligação entre os dois SNPs do gene *FTO*, o rs1121980 e o rs9939609. O resultado obtido demonstrou um forte desequilíbrio de ligação, com um χ^2 que tende ao infinito e valor de p altamente significativo.

Como o gene *MC4R* não está localizado no mesmo cromossomo do gene *FTO*, eles não poderiam apresentar um desequilíbrio de ligação propriamente dito. Porém, através do cálculo associação entre *loci* não ligados, encontrou-se um χ^2 de 9,491 e um valor de p significativo, igual a 0,049 entre os SNPs *FTO* rs9939609 e *MC4R* rs17782313.

5.3.2 Estimativa das Frequências dos Haplótipos dos SNPs do gene *FTO* e Análise com o Câncer de Mama

As frequências estimadas dos haplótipos dos SNPs *FTO* rs1121980 e *FTO* rs9939609 respectivamente foram (os alelos de risco de cada SNP estão representados em negrito):

- Haplótipo C/T – 0,5947 em casos e 0,5366 em controles;
- Haplótipo C/A – 0,0103 em casos e 0,0107 em controles;
- Haplótipo T/T – 0,0253 em casos e 0,0512 em controles;
- Haplótipo T/A – 0,3697 em casos e 0,4015 em controles.

Nenhuma das frequências haplotípicas estimadas apresentou associação significativa com o câncer de mama (C/T $p = 0,496$; C/A $p = 0,961$; T/T $p = 0,192$; T/A $p = 0,623$).

5.3.3 Interações entre os Genótipos dos SNPs do Gene *FTO* e o Câncer de Mama

Foram realizadas algumas análises de associação entre as possíveis combinações de genótipos dos SNPs do gene *FTO* (rs1121980/rs9939609), esses resultados estão apresentados na tabela 25. Nenhuma associação significativa foi observada, mas pode-se perceber que algumas combinações de genótipos não foram encontradas (TC/AA, TT/AA, CC/AA) ou foram encontradas somente uma vez (TT/TT).

Tabela 25 – Análise das combinações dos genótipos dos SNPs rs1121980 e rs9939609 do gene *FTO*. Os alelos de risco estão indicados em negrito.

<i>FTO</i> rs1121980 / <i>FTO</i> rs9939609	Controles		Pacientes		OR	<i>p</i> ^a
	n = 148 (%)		n = 100 (%)		(95% IC)	
TT/AA	22	15%	13	13%	0,856 (0,409-1,790)	0,679
TC/AT	66	45%	45	45%	1,017 (0,610-1,693)	0,950
CC/TT	43	29%	35	35%	1,315 (0,764-2,263)	0,323
TT/AT	9	6%	3	3%	0,478 (0,126-1,810)	0,277
TC/TT	4	3%	2	2%	0,735 (0,132-4,089)	0,250
TC/AA	0	0%	0	0%	-	-
CC/AT	3	2%	2	2%	0,986 (0,162-6,012)	0,988
TT/TT	1	1%	0	0%	-	-
CC/AA	0	0%	0	0%	-	-

^a Valor de *p* significativo quando $\leq 0,05$

5.3.4 Interações entre a Presença dos Alelos de Risco dos SNPs nos genes *FTO* e *MC4R* e o Câncer de Mama

Análises de OR também foram realizadas para verificar a interação entre a presença dos alelos de risco dos três SNPs com o câncer de mama (Tabela 26). Nenhuma das interações mostrou associação significativa.

Tabela 26 – Análise das interações entre a presença dos alelos de risco dos SNPs estudados (*FTO* rs1121980, *FTO* rs9939609 e *MC4R* rs17782313) com o câncer de mama.

<i>FTO</i> rs1121980	<i>FTO</i> rs9939609	<i>MC4R</i> rs17782313	OR (IC)	<i>p</i> ^a
TT+TC	AA+AT	CC+TC	0,817 (0,434-1,538)	0,532
TT+TC	AA+AT	-	0,822 (0,486-1,391)	0,466
TT+TC	-	CC+TC	0,838 (0,450-1,561)	0,578
-	AA+AT	CC+TC	0,817 (0,434-1,538)	0,532

^a Valor de *p* significativo quando $\leq 0,05$

5.4 ANÁLISES DE ASSOCIAÇÃO DOS SNPs NOS GENES *FTO* E *MC4R* COM O IMC

Análises foram realizadas para verificar se os SNPs do gene *FTO* e do gene *MC4R* estão associados com o IMC (sobrepeso, obesidade e ambos) separadamente na população controle, que é composta por mulheres de Santa Catarina e no grupo de pacientes, composto por mulheres com câncer de mama.

5.4.1 No Grupo Controle

As análises de associação dos SNPs estudados com o IMC no grupo controle estão descritas nas tabelas: 27 (*FTO* rs1121980), 28 (*FTO* rs9939609) e 29 (*MC4R* rs17782313). Nenhum SNP mostrou associação significativa com o sobrepeso, obesidade ou ambos.

5.4.2 No Grupo de Pacientes

As análises de associação dos SNPs estudados com IMC no grupo de pacientes estão descritas nas tabelas: 30 (*FTO* rs1121980), 31 (*FTO* rs9939609) e 32 (*MC4R* rs17782313). Nenhuma das análises apresentou associação significativa com o sobrepeso, obesidade ou ambos.

Tabela 27 – Análise de associação do SNP *FTO* rs1121980 com IMC no grupo controle através de quatro modelos estatísticos.

	SNP <i>FTO</i> rs1121980							
	Modelo Recessivo		Modelo Dominante		Comparação de homozigoto		Comparação de heterozigoto	
	OR (IC)	p^a	OR (IC)	p^a	OR (IC)	p^a	OR (IC)	p^a
Obesidade	1,108 (0,403-3,041)	0,843	0,822 (0,336-2,013)	0,667	0,949 (0,301-2,991)	0,928	0,766 (0,290-2,026)	0,592
Sobrepeso	1,080 (0,486-2,398)	0,851	1,147 (0,559-2,350)	0,709	1,167 (0,463-2,944)	0,743	1,137 (0,529-2,447)	0,742
Sobrepeso e obesidade	1,230 (0,556-2,721)	0,610	0,936 (0,464-1,888)	0,854	1,124 (0,450-2,807)	0,802	0,862 (0,408-1,823)	0,698

^a Valor de p significativo quando $\leq 0,05$ Tabela 28 – Análise de associação do SNP *FTO* rs9939609 com IMC no grupo controle através de quatro modelos estatísticos.

	SNP <i>FTO</i> rs9939609							
	Modelo Recessivo		Modelo Dominante		Comparação de homozigoto		Comparação de heterozigoto	
	OR (IC)	p^a	OR (IC)	p^a	OR (IC)	p^a	OR (IC)	p^a
Obesidade	1,471 (0,489-4,425)	0,546	1,098 (0,440-2,739)	0,842	1,471 (0,420-5,149)	0,546	1,000 (0,381-2,624)	1,000
Sobrepeso	1,088 (0,433-2,736)	0,858	1,111 (0,547-2,256)	0,771	1,154 (0,411-3,237)	0,786	1,099 (0,525-2,303)	0,802
Sobrepeso e obesidade	1,493 (0,585-3,808)	0,402	1,077 (0,539-2,150)	0,834	1,481 (0,525-4,180)	0,458	0,987 (0,480-2,031)	0,972

^a Valor de p significativo quando $\leq 0,05$ Tabela 29 – Análise de associação do SNP *MC4R* rs17782313 com IMC no grupo controle através de quatro modelos estatísticos.

	SNP <i>MC4R</i> rs17782313							
	Modelo Recessivo		Modelo Dominante		Comparação de homozigoto		Comparação de heterozigoto	
	OR (IC)	p^a	OR (IC)	p^a	OR (IC)	p^a	OR (IC)	p^a
Obesidade	2,400 (0,209-27,503)	0,482	1,489 (0,604-3,674)	0,388	2,647 (0,227-30,853)	0,437	1,412 (0,553-3,601)	0,470
Sobrepeso	3,179 (0,282-35,876)	0,350	0,640 (0,299-1,370)	0,250	2,756 (0,242-31,330)	0,414	0,561 (0,252-1,248)	0,414
Sobrepeso e obesidade	ND	ND	0,907 (0,440-1,869)	0,791	ND	ND	0,783 (0,373-1,645)	0,519

^a Valor de p significativo quando $\leq 0,05$

Tabela 30 – Análise de associação do SNP *FTO* rs1121980 com IMC no grupo de pacientes através de quatro modelos estatísticos.

	SNP <i>FTO</i> rs1121980							
	Modelo Recessivo		Modelo Dominante		Comparação de homozigoto		Comparação de heterozigoto	
	OR (IC)	p^a	OR (IC)	p^a	OR (IC)	p^a	OR (IC)	p^a
Obesidade	1,222 (0,352-4,248)	0,752	1,036 (0,388-2,767)	0,944	1,208 (0,305-4,783)	0,787	0,980 (0,343-2,797)	0,969
Sobrepeso	0,840 (0,279-2,526)	0,756	0,863 (0,379-1,967)	0,727	0,788 (0,236-2,623)	0,697	0,891 (0,372-2,133)	0,795
Sobrepeso e obesidade	0,975 (0,323-2,943)	0,964	0,880 (0,378-2,049)	0,767	0,903 (0,267-3,047)	0,869	0,873 (0,357-2,136)	0,766

^a Valor de p significativo quando $\leq 0,05$

Tabela 31 – Análise de associação do SNP *FTO* rs9939609 com IMC no grupo de pacientes através de quatro modelos estatísticos.

	SNP <i>FTO</i> rs9939609							
	Modelo Recessivo		Modelo Dominante		Comparação de homozigoto		Comparação de heterozigoto	
	OR (IC)	p^a	OR (IC)	p^a	OR (IC)	p^a	OR (IC)	p^a
Obesidade	1,704 (0,470-6,170)	0,417	1,759 (0,620-4,987)	0,288	2,296 (0,530-9,955)	0,267	1,632 (0,549-4,847)	0,378
Sobrepeso	1,273 (0,395-4,110)	0,686	0,724 (0,318-1,648)	0,442	1,008 (0,284-3,583)	0,99	0,662 (0,278-1,575)	0,351
Sobrepeso e obesidade	2,138 (0,549-8,333)	0,273	1,059 (0,457-2,450)	0,894	2,029 (0,475-8,660)	0,339	0,913 (0,382-2,185)	0,838

^a Valor de p significativo quando $\leq 0,05$

Tabela 32 – Análise de associação do SNP *MC4R* rs17782313 com IMC no grupo de pacientes através de quatro modelos estatísticos.

	SNP <i>MC4R</i> rs17782313							
	Modelo Recessivo		Modelo Dominante		Comparação de homozigoto		Comparação de heterozigoto	
	OR (IC)	p^a	OR (IC)	p^a	OR (IC)	p^a	OR (IC)	p^a
Obesidade	0,695 (0,077-6,282)	0,746	0,821 (0,309-2,186)	0,694	0,657 (0,071-6,104)	0,712	0,852 (0,306-2,372)	0,759
Sobrepeso	0,705 (0,123-4,043)	0,695	0,933 (0,413-2,108)	0,868	0,700 (0,119-4,123)	0,693	0,980 (0,417-2,303)	0,963
Sobrepeso e obesidade	0,567 (0,108-2,964)	0,501	0,808 (0,354-1,844)	0,612	0,538 (0,100-2,906)	0,472	0,870 (0,364-2,080)	0,754

^a Valor de p significativo quando $\leq 0,05$

6 DISCUSSÃO

6.1 ASSOCIAÇÃO DOS DADOS EPIDEMIOLÓGICOS E O RISCO NO DESENVOLVIMENTO DO CÂNCER DE MAMA

Alguns fatores de risco ligados ao histórico hormonal e reprodutivo das mulheres estão bem estabelecidos quanto às suas contribuições no risco de desenvolvimento do câncer de mama. Mulheres que possuem um histórico de exposição prolongada aos hormônios estrogênio e progesterona possuem um risco elevado de desenvolver a doença. Estes hormônios atuam no estímulo da proliferação celular e, conseqüentemente, podem propiciar o aparecimento ou crescimento de tumores (INCA, 2011a).

Mulheres que iniciam seus ciclos reprodutivos muito cedo ficam mais expostas à ação dos hormônios, por isso, a menarca precoce (abaixo de 12 anos) é considerada um fator de risco para o câncer de mama (INCA, 2011a). No presente trabalho, esta análise apresentou um resultado significativo (OR = 2,239; IC95% 1,084-4,627; $p = 0,029$), o que representa uma associação positiva da menarca precoce com um risco de mais de duas vezes nas chances de desenvolver o câncer de mama.

O uso prolongado de anticoncepcionais e a utilização de terapia de reposição hormonal também são considerados fatores de risco para o desenvolvimento do câncer de mama, por causarem o aumento dos níveis hormonais. O risco é elevado naquelas mulheres que utilizaram anticoncepcionais nos últimos dez anos e naquelas que utilizaram a terapia de reposição hormonal nos últimos cinco anos (INCA, 2011a). Porém, através das análises realizadas neste estudo, estas características apresentaram um efeito de proteção significativo para o câncer de mama (anticoncepcionais: OR = 0,217; IC95% 0,120-0,394; $p = 0,000$; terapia de reposição hormonal: OR = 0,187; IC95% 0,081-0,428; $p = 0,000$). Entretanto, como estes dados são contrários à literatura atual (INCA, 2011a), eles foram re-analisados de forma minuciosa, chegando-se então à conclusão de que se tratavam de resultados espúrios. Esta conclusão se deu pela observação de dois fatores importantes: houve um alto número de indivíduos que não informaram esses dados no questionário; e houve um viés considerável na amostra, que comprometia de forma clara e específica essas análises - a discrepância nas taxas de escolaridade nos dois grupos, controles e pacientes. Sabe-se que muitas mulheres não fazem o uso de anticoncepcionais ou de terapia de reposição hormonal por desconhecerem ou por falta de acessibilidade a estes métodos. Isto

foi o que parece ter ocorrido no grupo de pacientes, que possui baixa taxa de escolaridade em relação ao grupo controle.

6.1.1 Análise do IMC com o Câncer de Mama

O efeito da obesidade no risco de desenvolver o câncer de mama apresenta alguns resultados controversos na literatura (INUMARU et al., 2011). A maioria dos estudos apresenta a obesidade como um fator de risco para o câncer de mama somente em mulheres que estão no estágio reprodutivo de pós-menopausa (HUANG et al., 1997; TRENTAM-DIETZ et al., 1997; BRANDT et al., 2000 AHN et al., 2007; BORGQUIST et al., 2009). Por outro lado, outros estudos apontam a obesidade como um fator de risco somente nas mulheres na fase de pré-menopausa (MATHEW et al., 2008). Em alguns trabalhos foi observada, até mesmo, a obesidade como uma proteção ao câncer de mama (PALMER et al., 2007; NEMESURE et al., 2009; CUST et al., 2009).

No presente trabalho, não foram encontradas associações significativas do sobrepeso nem da obesidade com o risco de desenvolvimento do câncer de mama, nem mesmo quando as mulheres foram analisadas de acordo com o seu estágio reprodutivo. Uma análise semelhante foi realizada em um estudo no Sul do Brasil, no qual, a obesidade também não mostrou relação significativa com o câncer de mama (FELDEN et al., 2011).

6.2 ANÁLISES DOS SNPs DOS GENES *FTO* E *MC4R* E SUAS ASSOCIAÇÕES COM O CÂNCER DE MAMA

Há somente três estudos, publicados recentemente, que analisaram a associação de SNPs relacionados ao sobrepeso e obesidade com o câncer de mama: KAKLAMANI et al. (2011), KUSINSKA et al. (2011), YAN et al. (2011).

O primeiro estudo foi realizado em Chicago (EUA) e foi publicado em abril de 2011. Foram analisados quatro SNPs do gene *FTO*, inclusive o rs9939609. Estas análises foram realizadas através de modelos genéticos epistáticos e não epistáticos, todos os quatro SNPs apresentaram associação positiva com o câncer de mama. Concluiu-se que os polimorfismos do gene *FTO* podem ser potentes preditores do risco de câncer de mama. Este trabalho verificou ainda, a expressão do gene *FTO* em tecido mamário normal e em tecido tumoral; o *FTO* mostrou estar significativamente expresso em ambos (KAKLAMANI et al., 2011).

O segundo estudo foi realizado na Polônia e publicado em junho de 2011. Dentre os polimorfismos analisados estavam o *FTO* rs9939609 e o *MC4R* rs17782313, porém nenhuma associação significativa desses SNPs foi encontrada com o câncer de mama (KUSINSKA et al., 2011).

O terceiro é um estudo piloto, ainda não totalmente descrito e publicado em novembro de 2011, com 50 pacientes diagnosticadas com câncer de mama e 202 mulheres saudáveis (controles), no estado da Pennsylvania (EUA). Foram analisados três SNPs do gene *FTO* para verificar o risco de câncer de mama na fase de pós-menopausa, um deles foi o rs9939609. Concluiu-se que um dos SNPs estudados parece estar associado com o câncer de mama na fase de pós-menopausa, ainda que o número amostral fosse pequeno e pudesse interferir na análise. Nenhum desses SNPs apresentou associação com IMC, diabetes ou síndrome metabólica (YAN et al., 2011).

6.2.1 SNP *FTO* rs1121980

O SNP rs1121980 é encontrado no primeiro íntron do gene *FTO* e desde 2007, com a descoberta de que polimorfismos deste gene estavam relacionados com a obesidade (DINA et al., 2007), muitos estudos tem sido realizados com o objetivo de verificar a sua associação com o IMC e com algumas características e comorbidades relacionadas ao excesso de peso.

Neste estudo, as frequências do alelo de risco (T) foram: 0,45 no grupo controle e 0,40 no grupo de pacientes. Na tabela 33 estão apresentadas as frequências do alelo de risco encontradas em outras populações. Não há nenhum estudo com esse SNP na população brasileira. Pode-se perceber que, neste trabalho, as frequências do alelo de risco se mostraram próximas àquelas encontradas em populações europeias, americanas e até mesmo à população africana. As frequências observadas em algumas populações asiáticas são relativamente menores.

Tabela 33 – Frequência do alelo de risco (T) do SNP *FTO* rs1121980 em diferentes populações.

<i>FTO</i> rs1121980		
População	Frequência do alelo de risco (T)	Referência
Mulheres de Santa Catarina (controles)	0,45	Presente estudo
Mulheres de Santa Catarina (câncer de mama)	0,40	Presente estudo
AMÉRICA		
Afro-americanos	0,46	ADEYEMO et al., 2010
Euro-americanos	0,44	LUAN et al., 2009
Hispano-americanos	0,25	WING et al., 2010
EUROPA		
Franceses	0,42	DINA et al., 2007
Alemães	0,41	HINNEY et al., 2007
Italianos	0,55	SCUTERI et al., 2007
Mulheres Holandesas	0,42	BAUER et al., 2009
Suecos	0,42	RENSTRÖM et al., 2009
Britânicos	0,43	VIMALESWARAN et al., 2009
Britânicos	0,43	HOED et al., 2011
Europeus	0,43	LI et al., 2010
ÁFRICA		
Africanos	0,49	ADEYEMO et al., 2010
ÁSIA		
Japoneses	0,21	HOTTA et al., 2008
Chineses de Singapura	0,16	TAN et al., 2008
Chineses	0,17	DELAHANTY et al., 2011
Malaio de Singapura	0,31	TAN et al., 2008
Indianos	0,42	TAN et al., 2008
Coreanos	0,17	CHA et al., 2009

O SNP *FTO* rs1121980 apresentou associações com o IMC elevado em várias populações, sendo desta forma, considerado um fator de risco para a obesidade. Porém, nenhum estudo havia analisado anteriormente a sua associação com o câncer de mama. Através das análises realizadas no presente trabalho, não foram encontradas associações significativas que relacionassem a presença deste SNP e o risco de câncer de mama.

O SNP rs1121980 em conjunto com o IMC também foi analisado neste trabalho e nenhum resultado significativo foi observado. Entretanto, nas mulheres que estão na fase de pré-menopausa, houve um dado interessante: quando se analisou a obesidade e o SNP rs1121980,

os genótipos TT e TC em conjunto (modelo dominante) apresentaram um valor de OR alto (OR = 6,500; IC95% 0,746-56,641; $p = 0,090$), o que indica que esse dado merece atenção em futuras análises.

Os demais dados epidemiológicos em conjunto com o SNP rs1121980 também não mostraram associações significativas com o câncer de mama. Não há dados na literatura que permitam realizar uma comparação com esses resultados.

6.2.2 SNP *FTO* rs9939609

O SNP rs9939609 foi o primeiro polimorfismo a ser descrito no gene *FTO* (FRAYLING et al., 2007) e é, atualmente, o que possui mais trabalhos publicados e mais associações com IMCs elevados.

Neste estudo, observaram-se frequências do alelo de risco (A) iguais a 0,41 para o grupo controle e 0,38 para o grupo de pacientes. Na tabela 34 são apresentadas as frequências do alelo risco (A) em várias populações mundiais (alguns dos trabalhos referenciados na tabela apresentam frequências alélicas de diversos estudos longitudinais). Ao se comparar as frequências encontradas na população do presente estudo com as demais listadas, percebe-se que elas são similares às aquelas encontradas nas populações europeias e americanas.

Somente dois estudos analisaram o SNP rs9939609 na população brasileira, ambos no Rio Grande do Sul:

- Um foi realizado em pacientes com diabetes do tipo 2, e apresentou uma frequência do alelo A de 0,36, muito semelhante à encontrada no presente estudo (STEEMBURGO et al., 2011).

- O outro analisou a relação do SNP rs9939609 com variáveis metabólicas e cardiovasculares em mulheres na fase de pós-menopausa. A frequência do alelo de risco encontrada foi de 0,34, similar à encontrada no presente estudo (RAMOS et al., 2011).

Na tabela 34 também são apresentadas as frequências do alelo de risco em pacientes com câncer de mama pertencentes a diferentes populações (em negrito). No estudo realizado em polonesas, as frequências alélicas em pacientes (0,45) e controles (0,43) foram semelhantes às observadas no presente estudo (KUSINSKA et al., 2011). No entanto, no estudo com norte-americanas as frequências encontradas (0,62 em controles e 0,63 em pacientes) se mostram acima das observadas no presente trabalho, assim como nas demais populações listadas na tabela (KAKLAMANI et al., 2011).

Observa-se que as populações asiáticas apresentam as menores frequências alélicas para o SNP rs9939609.

Tabela 34 – Frequência do alelo de risco (A) do SNP *FTO* rs9939609 em diferentes populações.

<i>FTO</i> rs9939609		
População	Frequência do alelo de risco (A)	Referência
Mulheres de Santa Catarina (controles)	0,41	Presente estudo
Mulheres de Santa Catarina (câncer de mama)	0,38	Presente estudo
AMÉRICA		
Brasileiros – Porto Alegre (diabetes tipo 2)	0,36	STEMBURGO et al., 2011
Brasileiras – Porto Alegre (pós-menopausa)	0,34	RAMOS et al., 2011
Norte-americanas com câncer de mama	0,63	KAKLAMANI et al., 2011
Norte americanas	0,62	KAKLAMANI et al., 2011
Norte americanos	0,36	PRICE et al., 2008
Norte-americanos	0,40	LUAN et al., 2009
Norte-americanos	0,41	NOCK et al., 2011
Norte-americanas	0,40	LURIE et al., 2011
Afro-americanos	0,46	FRAYLING et al., 2007
Afro-americanos	0,45	SONG et al., 2008
Afro-americanos	0,49	NOCK et al., 2011
Afro-americanos	0,45	LIU et al., 2011
Afro-americanos	0,52	LIU et al., 2011
Euro-americanos	0,38	LIU et al., 2011
Euro-americanos	0,37	LIU et al., 2011
Hispano-americanos	0,31	SONG et al., 2008
Hispano-americanos	0,22	WING et al., 2009
Nativos americanos	0,26	SEAL et al., 2011
Mexicanos	0,16	VILLALOBOS-COMPARÁN et al., 2008
EUROPA		
Polonesas com câncer de mama	0,45	KUSINSKA et al., 2011
Polonesas	0,43	KUSINSKA et al., 2011
Britânicos	0,39	FRAYLING et al., 2007
Britânicos	0,37	FRAYLING et al., 2007
Britânicos	0,38	FRAYLING et al., 2007
Britânicos	0,34	FRAYLING et al., 2007
Britânicos	0,38	FRAYLING et al., 2007
Britânicos	0,37	FRAYLING et al., 2007
Britânicos	0,42	FRAYLING et al., 2007
Italianos	0,54	SCUTERI et al., 2007
Crianças Britânicas	0,39	TIMPSON et al., 2008
Alemães	0,38	HINNEY et al., 2007

Alemães	0,44	MULLER et al., 2008
Belgos	0,40	PEETERS et al., 2008
Dinamarquês	0,37	ANDREASEN et al. 2008
Dinamarquês	0,40	ZIMMERMANN et al., 2011
Dinamarqueses	0,40	LAWLOR et al., 2011
Suecos e Finlandeses	0,44	LYSENKO et al, 2008
Suecos	0,42	JACOBSSON et al., 2008
Suecos	0,39	JACOBSSON et al., 2009
Suecos	0,39	BENEDICT et al., 2011
Europeus	0,41	WILLER et al., 2009
Franceses	0,41	LEGRY et al., 2009
Espanhóis	0,37	GONZÁLEZ-SÁNCHEZ et al., 2009
Espanhóis	0,34	ZABENA et al., 2009
Espanhóis	0,40	MOLERES et al., 2011
Austríacos	0,42	MANGGE et al., 2011
Ciganos Romanos	0,47	MACEKOVÁ et al., 2011
Europeus	0,39	RUIZ et al., 2010
Europeus	0,44	WELSH et al., 2010
ÁFRICA		
Africanos	0,50	FRAYLING et al., 2007
ÁSIA		
Chineses	0,12	LI et al., 2008
Chineses	0,12	CHANG et al., 2008
Chineses de Singapura	0,11	TAN et al., 2008
Chineses	0,11	LIU et al., 2010
Chineses	0,12	XI et al., 2010
Chineses	0,12	DELAHANTY et al., 2011
Chineses	0,39	HUANG et al., 2011
Japoneses	0,18	HOTTA et al., 2008
Japoneses	0,16	TABARA et al., 2009
Japoneses	0,20	KARASAWA et al., 2010
Japoneses	0,19	TAKEUCHI et al., 2011
Malaios de Singapura	0,28	TAN et al., 2008
Taiwanêses	0,12	CHANG et al., 2008
Singapureanos	0,30	LIM et al., 2009
Paquistaneses	0,29	REES et al., 2011
Paquistaneses	0,28	REES et al., 2011
Paquistaneses	0,31	REES et al., 2011
Indianos	0,33	TAN et al., 2008
Indianos	0,31	REES et al., 2011
Indianos	0,30	REES et al., 2011
Indianos	0,33	TAYLOR et al., 2011
Indianos	0,12	RANJITH et al., 2011
Asiáticos	0,17	SONG et al., 2008

Nos dois únicos trabalhos que analisaram a presença do SNP rs9939609 com o câncer de mama, um na população polonesa (KUSINSKA et al., 2011) e outro em uma população norte-americana (KAKLAMANI et al., 2011), encontraram-se resultados discordantes. Na população norte-americana, na qual foram utilizadas análises estatísticas distintas, este SNP apresentou uma forte associação com a doença, entretanto, em polonesas, essa associação não foi significativa (OR = 1,05; IC95% 0,68-1,61). No presente estudo, assim como no estudo com polonesas, não foram encontradas associações significativas entre o SNP rs9939609 e o câncer de mama, mesmo ao analisar diferentes modelos de interação genética.

As demais análises realizadas com este SNP (aliado ao IMC e a características epidemiológicas) para o câncer de mama, não apresentaram associações significativas. Não há dados comparáveis na literatura.

6.2.3 SNP *MC4R* rs17782313

O gene *MC4R* é conhecido pelo seu papel na regulação do apetite, mutações neste gene estão bem estabelecidas como causa de obesidade do tipo monogênica (YEO et al., 1998; VAISSE et al., 1998). Recentemente, houve a descoberta de alguns polimorfismos no *MC4R*, um deles é o SNP rs17782313, localizado 188kb à jusante do gene (LOOS et al., 2008). Estudos de larga escala tem encontrado associação deste SNP com IMC, circunferência da cintura e risco de obesidade (LUAN et al., 2009; LIEM et al., 2009; ZOBEL et al., 2009; MEYRE et al., 2009; CHA et al., 2009; BAUER et al., 2009).

No presente trabalho foram determinadas as frequências para o alelo de risco do SNP *MC4R* rs17782313 de: 0,23 em pacientes e uma frequência levemente menor em controles – 0,15. Ao comparar essas frequências com as observadas na literatura (Tabela 35), percebe-se que elas são similares às encontradas nas populações europeias e americanas. Porém, a frequência alélica do grupo controle parece ser menor também em relação à maioria das frequências observadas em outros estudos.

As frequências observadas no trabalho com mulheres polonesas, que também analisou mulheres com câncer de mama, foram muito semelhantes às encontradas no presente estudo.

Em alguns trabalhos com populações asiáticas podem-se perceber frequências do alelo de risco mais elevadas em comparação com as demais populações.

Tabela 35 – Frequência do alelo de risco (C) do SNP *FTO* rs9939609 em diferentes populações.

<i>MC4R</i> rs17782313		
População	Frequência do alelo de risco (C)	Referência
Mulheres de Santa Catarina (controles)	0,15	Presente estudo
Mulheres de Santa Catarina (câncer de mama)	0,23	Presente estudo
AMERICA		
Euro-americanos	0,22	LUAN et al., 2009
Euro-americanos	0,21	LIU et al., 2011
Euro-americanos	0,20	LIU et al., 2011
Afro-americanos	0,29	LIU et al., 2011
Afro-americanos	0,31	LIU et al., 2011
Norte-americanas	0,25	LURIE et al., 2011
EUROPA		
Polonesas com câncer de mama	0,24	KUSINSKA et al., 2011
Polonesas	0,24	KUSINSKA et al., 2011
Mulheres Holandesas	0,26	BAUER et al., 2009
Britânicos	0,24	HOED et al., 2011
Dinamarqueses	0,25	LAWLOR et al., 2011
Suecos	0,26	RENSTROM et al., 2009
Europeus	0,21	WILLER et al. 2009
Europeus	0,38	WELSH et al., 2010
Europeus	0,23	LI et al., 2010
Descendentes de Europeus	0,24	LOOS et al., 2008
Descendentes de Europeus	0,24	LOOS et al., 2008
Descendentes de Europeus	0,23	LOOS et al., 2008
Descendentes de Europeus	0,24	LOOS et al., 2008
Descendentes de Europeus	0,23	LOOS et al., 2008
Descendentes de Europeus	0,25	LOOS et al., 2008
Descendentes de Europeus	0,18	LOOS et al., 2008
Descendentes de Europeus	0,24	LOOS et al., 2008
Descendentes de Europeus	0,24	LOOS et al., 2008
Descendentes de Europeus	0,24	LOOS et al., 2008
Descendentes de Europeus	0,24	LOOS et al., 2008
Descendentes de Europeus	0,12	LOOS et al., 2008
Descendentes de Europeus	0,26	LOOS et al., 2008
Descendentes de Europeus	0,24	LOOS et al., 2008
Descendentes de Europeus	0,24	LOOS et al., 2008
Descendentes de Europeus	0,22	LOOS et al., 2008
Descendentes de Europeus	0,22	LOOS et al., 2008

Descendentes de Europeus	0,23	LOOS et al., 2008
Descendentes de Europeus	0,22	LOOS et al., 2008
Descendentes de Europeus	0,19	LOOS et al., 2008
ÁSIA		
Chineses	0,40	HUANG et al., 2011
Chineses	0,21	DELAHANTY et al., 2011
Chineses	0,41	XI et al., 2011
Coreanos	0,25	CHA et al., 2009
Indianos	0,34	TAYLOR et al., 2011
Indianos	0,12	RANJITH et al., 2011
OCEANIA		
Australianos	0,39	CORNES et al., 2009

O único estudo que havia analisado o SNP *MC4R* rs17782313 e o risco de câncer de mama não encontrou nenhuma associação significativa com a doença (KUSINSKA et al., 2011). Porém, no presente trabalho, uma associação significativa foi encontrada entre o SNP rs17782313 e o câncer de mama (OR = 1,740; IC95% 1,016-2,980; $p = 0,044$). Esta associação foi verificada através do modelo dominante (CC+TC x TT), indicando que a presença do alelo C, na população estudada, é um fator de risco para o desenvolvimento do câncer de mama. Há duas explicações possíveis para tal associação:

1 – Associação indireta: o alelo C do SNP rs17782313 estaria relacionado com o aumento do risco de câncer de mama através de um efeito no IMC;

2 – Associação direta: o polimorfismo rs17782313 poderia estar diretamente relacionado com o câncer de mama, independentemente do seu efeito no aumento do IMC. Sabe-se que a expressão do *MC4R* não se dá somente no cérebro, ele também é expresso no tecido adiposo, por exemplo (HPRD, 2011). Como as mamas são constituídas em grande parte por este tecido, é possível que o polimorfismo rs17782313 influencie a função do *MC4R*, por exemplo, através do acúmulo excessivo de gordura na região mamária, que poderia estar relacionado com o aumento dos níveis de hormônios *in locu* e estaria associado com o aumento do risco de câncer de mama.

Analisou-se ainda a associação do SNP rs17782313 em conjunto com o sobrepeso, a obesidade e o câncer de mama. Não houve resultados significativos. No entanto, algumas dessas análises apresentaram um valor de p próximo da significância, como por exemplo, a análise de sobrepeso e obesidade no modelo estatístico de comparação de heterozigoto (OR = 1,908; IC95% 0,962-3,782; $p =$

0,064). Como o alelo de risco possui frequência relativamente baixa na população do presente estudo e o tamanho amostral não é alto, este resultado indica que esse tipo de análise deve ser continuada em futuros trabalhos.

Ao se estratificar a amostra de acordo com o estágio reprodutivo, o SNP rs17782313 em conjunto com o sobrepeso mostrou duas associações significativas na fase de pós-menopausa: no modelo dominante (CC+TC x TT) (OR = 2,772; IC95% 1,057-7,267; $p = 0,038$) e no modelo comparação de heterozigoto (TC x TT) (OR = 3,256; IC95% 1,109-9,557; $p = 0,032$).

Estes resultados confirmam o papel do polimorfismo *MC4R* rs17782313 no risco do câncer de mama e demonstram que este risco pode ser aumentado em até mais de três vezes nas mulheres que estão na fase de pós-menopausa e com sobrepeso.

As análises que foram realizadas desse SNP com os demais dados epidemiológicos não apresentaram associações significativas, o que não pode ser comparado com a literatura, visto que não há outros trabalhos publicados.

6.3 ANÁLISES DE INTERAÇÕES ENTRE OS SNPs

6.3.1 Desequilíbrio de Ligação e Associação entre *Loci* Não Ligados

Os dois polimorfismos do gene *FTO* analisados (rs1121980 e rs9939609) apresentaram um forte desequilíbrio de ligação neste estudo, o que aponta que estes dois *loci* não estão sendo segregados de forma independente. Ambos os SNPs estão localizados em um bloco de 47kb no cromossomo 16, em forte desequilíbrio de ligação, que engloba os dois primeiros íntrons e os dois primeiros éxons do gene *FTO* (FRAYLING et al., 2007). Esse dado é interessante, pois se pode utilizar a estratégia de *Tag* SNPs, na qual é necessária apenas a genotipagem de SNPs marcadores do bloco haplotípico. Outros estudos haviam demonstrado que estes SNPs se encontram em desequilíbrio de ligação (HINNEY et al. 2007; HOTTA et al. 2008; LUAN et al. 2009; VIMALESWARAN et al. 2009; WILLER et al. 2009; WING et al. 2009).

Genes que estão em cromossomos diferentes não podem apresentar uma ligação física, porém, através do cálculo de associação entre *loci* não ligados, pode-se estimar se seus alelos estão segregando de forma independente ou não. No caso dos SNPs *FTO* rs9939609 e *MC4R* rs17782313, no qual se encontrou um desequilíbrio de ligação igual a 9,491 e valor de p significativo (0,049), é provável que haja

algum fator evolutivo interferindo na segregação desses dois *loci*, como a seleção (SLATKIN, 2008). Estes dois *loci* são conhecidos por influenciarem no fenótipo de IMC elevado, portanto, é possível que a seleção esteja atuando na segregação não independente dessas características, como ocorre no efeito de Bulmer (1971).

6.3.2 Interações entre a Presença dos Alelos de Risco dos SNPs e o Câncer de Mama

Em um estudo com adultos e crianças descendentes de europeus, encontrou-se um efeito aditivo dos SNPs *MC4R* rs17782313 e *FTO* rs1121980 em relação ao IMC em adultos e dos SNPs *MC4R* rs17782313 e *FTO* rs9939609 em relação ao IMC em crianças (LOOS et al., 2008).

No presente estudo foram realizadas todas as possíveis combinações entre os genótipos dos três polimorfismos analisados: combinações de dois a dois e combinação dos três SNPs. Porém, não foram encontradas associações significativas em nenhuma dessas combinações.

6.4 ANÁLISES DE ASSOCIAÇÃO DOS SNPs NOS GENES *FTO* E *MC4R* COM O IMC

6.4.1 No Grupo Controle

Os SNPs do gene *FTO* e do gene *MC4R* tem mostrado associação com IMCs elevados e com a obesidade em diferentes populações mundiais, algumas delas podem ser observadas na Tabela 36.

As análises realizadas no presente estudo não evidenciaram a associação de nenhum desses SNPs com o sobrepeso, com a obesidade ou com ambos. Este resultado indica que, nesse grupo de mulheres de Santa Catarina, os SNPs *FTO* rs1121980, *FTO* rs9939609 e *MC4R* rs17782313 não tem relação com o aumento do IMC. Estudos em diferentes populações também mostraram resultados semelhantes, como:

- *FTO* rs1121980: que não mostrou estar associado com IMC em afro-americanos (ADEYEMO et al., 2010);

- *FTO* rs9939609: que não apresentou associação com IMC em norte-americanos (LIU et al., 2008), em afro-americanos (ADEYEMO et al., 2010; LIU et al., 2011), em africanos (ADEYEMO et al., 2010; HENNIG et al., 2009), em alemães (HINNEY et al., 2007), em homens suecos (JACOBSSON et al., 2009), e em indianos (RANJITH et al., 2011);

- *MC4R* rs17782313: que não mostrou relação com IMC em afro-americanos (GRANT et al., 2010), em japoneses (TABARA et al., 2009), e em indianos (RANJITH et al., 2011).

Estudos em afro-descendentes encontraram outros SNPs do gene *FTO* associados com o IMC elevado, o rs3751812 e rs9941349 (HASSANEIN et al., 2010), indicando que os polimorfismos associados com a obesidade podem variar de uma população para outra. Isto pode acontecer pelo fato dos SNPs do gene *FTO* estarem em um bloco com alto desequilíbrio de ligação. Na população brasileira, por exemplo, o comportamento haplotípico pode ser diferente das outras populações até então analisadas. É possível, que na população brasileira, outros SNPs estejam ligados ao sobrepeso e obesidade, por isso, é fundamental a melhor elucidação do comportamento do gene *FTO* e *MC4R* nos brasileiros.

Tabela 36 – Associações dos SNPs *FTO* rs1121980, *FTO* rs9939609 e *MC4R* rs17782313 encontradas em algumas populações.

<i>FTO</i> rs1121980		
População	Associação	Publicação
AMÉRICA		
Euro-americanos	IMC	LUAN et al., 2009
Hispano-americanos	IMC e tecido adiposo subcutâneo	WING et al., 2009
EUROPA		
Franceses	Obesidade severa	DINA et al., 2007
Alemães	Obesidade	HINNEY et al., 2007
Suecos	Obesidade	REINSTROM et al., 2009
Mulheres	Peso e IMC	BAUER et al., 2009
Holandesas		
Britânicos	IMC	VIMALESWARAN et al., 2009
Britânicos	IMC	LI et al., 2010
Britânicos	Maior peso ao nascimento	HOED et al., 2011
Italianos	IMC, circunferência do quadril e peso	SCUTERI et al., 2007
ÁSIA		
Japoneses	Obesidade e obesidade severa	HOTTA et al., 2008
Chineses de Singapura	Obesidade	TAN et al., 2008
Malaaios de Singapura	Obesidade	TAN et al., 2008
Indianos asiáticos	Obesidade	TAN et al., 2008

Chineses	IMC	DELAHANTY et al., 2011
ÁFRICA		
Africanos	Obesidade	ADEYEMO et al., 2010
<i>FTO</i> rs9939609		
População	Associação	Publicação
AMÉRICA		
Brasileiros – Porto Alegre	Consumo de gordura total em pacientes com diabetes do tipo 2	STEEMBURGO et al., 2011
Brasileiras – Rio Grande do Sul	Níveis mais altos de glicose e acumulação de lipídeos	RAMOS et al., 2011
Euro-americanos	IMC e circunferência da cintura	LIU et al., 2011
Euro-americanos	Peso e IMC	LUAN et al., 2009
Mexicanos	Obesidade em adultos	VILLALOBOS-COMPARÁN et al., 2008
Hispano-americanos	Obesidade	WING et al., 2009
Afro-americanos	Obesidade	WING et al., 2009
Norte-americanos	IMC	HUNT et al., 2008
Norte-americanos	IMC	LUAN et al., 2009
Norte-americanos	IMC	NOCK et al., 2011
Norte-americanas	IMC em mulheres com síndrome do ovário policístico	EWENS et al., 2011
Norte-americanas	Obesidade e com câncer endometrial através de aumento no IMC	LURIE et al., 2011
EUROPA		
Britânicos	IMC	FRAYLING et al., 2007
Italianos	IMC, circunferência do quadril e peso	SCUTERI et al., 2007
Crianças Britânicas	Obesidade e saciedade	WARDLE et al., 2008
Crianças Britânicas	Consumo de gordura	TIMPSON et al., 2008
Suecos	Obesidade e IMC em meninas, mas não em meninos	JACOBSSON et al., 2008
Finlandeses	IMC em crianças acima de 7 anos	HAKANEN et al., 2009
Alemães	Sobrepeso	MULLER et al., 2008
Alemãs	IMC em mulheres com síndrome do ovário policístico	TAN et al., 2010

Belgos	Obesidade	PEETERS et al., 2008
Holandeses	Aumento do apetite	RUTTERS et al., 2010
Dinamarquês	IMC e diabetes do tipo 2	ANDREASEN et al. 2008
Dinamarqueses	IMC	LAWLOR et al., 2011
Suecos e Finlandeses	Diabetes do tipo 2	LYSSENKO et al, 2008
Europeus	IMC	WILLER et al., 2009
Franceses	Obesidade e diabetes do tipo 2	LEGRY et al., 2009
Espanhóis	Obesidade	GONZÁLEZ-SÁNCHEZ et al., 2009
Espanhóis	Obesidade mórbida	ZABENA et al., 2009
Espanhóis	Obesidade e consumo de gordura em crianças e adolescentes	MOLERES et al., 2011
Austríacos	Obesidade em adolescentes	MANGGE et al., 2011
Austríacas	Sobrepeso, obesidade, diabetes do tipo 2 e hiperandrogenemia em mulheres com síndrome do ovário policístico	WEHR et al., 2010
Ciganos Romanos	Obesidade	MACEKOVÁ et al., 2011
Europeus	IMC e alta porcentagem de gordura	RUIZ et al., 2010
Europeus	IMC, leptina e proteína-C reativa circulantes	WELSH et al., 2010
OCEANIA		
Australianos	IMC	CORNES et al., 2009
ÁSIA		
Japoneses	Obesidade	HOTTA et al., 2008
Chineses	Obesidade e IMC	CHANG et al., 2008
Chineses de Singapura	Obesidade, circunferência da cintura, diabetes do tipo 2	TAN et al., 2008
Chineses	IMC e circunferência da cintura	LIU et al., 2010
Chineses	IMC e risco de obesidade em crianças e adolescentes	XI et al., 2010
Chineses	IMC	DELAHANTY et al., 2011
Chineses	Obesidade e IMC	HUANG et al., 2011
Japoneses	Obesidade e obesidade severa	HOTTA et al., 2008
Japoneses	IMC	TABARA et al., 2009
Japoneses	Obesidade	KARASAWA et al., 2010
Japoneses	Obesidade	TAKEUCHI et al., 2011
Malaio de Singapura	Obesidade, circunferência da cintura, diabetes do tipo 2	TAN et al., 2008

Singapureanos	Obesidade	LIM et al., 2009
Paquistaneses	Obesidade e IMC	REES et al., 2011
Indianos	Obesidade	TAN et al., 2008
Sul-asiáticos	IMC e circunferência da cintura	REES et al., 2011
Indianos	IMC e diabetes do tipo 2	YAJNIK et al., 2009
Indianos	Peso e IMC	TAYLOR et al., 2011
Asiáticos	Obesidade, mas não com diabetes em mulheres na pós-menopausa	SONG et al., 2008
<i>MC4R</i> rs17782313		
População	Associação	Publicação
AMERICA		
Euro-americanos	Peso e IMC	LUAN et al., 2009
Norte-americanas	Obesidade	LURIE et al., 2011
Norte-americanas	IMC em mulheres com síndrome do ovário policístico	EWENS et al., 2011
Descendentes de Europeus	IMC em adultos e crianças	LOOS et al., 2008
EUROPA		
Mulheres Holandesas	Peso e altura	BAUER et al., 2009
Dinamarqueses	IMC	LAWLOR et al., 2011
Suecos	IMC em mulheres e não em homens	RENTSTROM et al., 2009
Europeus	IMC	WILLER et al. 2009
Europeus	Obesidade	WELSH et al., 2010
ÁSIA		
Chineses	IMC e obesidade	HUANG et al., 2011
Chineses	IMC e câncer endometrial	DELAHANTY et al., 2011
Coreanos	IMC	CHO et al., 2009
Coreanos	IMC	CHA et al., 2009
Indianos	Peso e IMC	TAYLOR et al., 2011

6.4.2 No grupo de Pacientes

Foram realizadas análises dos SNPs *FTO* rs1121980, *FTO* rs9939609 e *MC4R* rs17782313 com o sobrepeso, com a obesidade e com ambos de forma separada no grupo de pacientes com câncer de mama. Alguns estudos realizaram essa mesma análise, como naqueles que estudaram mulheres com síndrome do ovário policístico. Estes estudos encontraram associações do SNP rs9939609 com IMC elevado

somente no grupo de pacientes (YAN et al., 2009; KOWALSKA et al., 2009; TAN et al., 2010; EWENS et al., 2011). Porém, no presente estudo, estas análises não mostraram resultados significativos, o que indica que os SNPs estudados não possuem relação com o IMC nesta população,

7. CONCLUSÕES

Através dos dados e análises apresentadas neste estudo, conclui-se que:

- Este foi o primeiro trabalho que verificou as frequências dos SNPs *FTO* rs1121980, *FTO* rs9939609, *MC4R* rs17782313 na população de Santa Catarina e, além disso, foi um dos primeiros que verificou esses dados na população Brasileira.

- Este trabalho foi também um dos primeiros estudos no mundo que analisou a associação dos polimorfismos *FTO* rs1121980, *FTO* rs9939609, *MC4R* rs17782313 com o risco de câncer de mama.

- Confirmou-se a menarca precoce (abaixo de 12 anos) como um fator de risco no desenvolvimento de câncer de mama. Porém, os demais dados epidemiológicos analisados não mostraram valores significativos.

- Encontraram-se associações significativas do polimorfismo *MC4R* rs17782313 com o câncer de mama nesta população. O alelo de risco (C) apresentou um risco elevado para o desenvolvimento da doença, e esse risco se mostrou ainda maior nas mulheres que estão na pós-menopausa e com sobrepeso.

- Os SNPs rs1121980 e rs9939609, do gene *FTO*, não apresentaram associações significativas com o câncer de mama nesta população, nem mesmo quando analisados em conjunto com o IMC.

- Os dados epidemiológicos analisados juntamente com os SNPs não mostraram estar associados significativamente com o câncer de mama.

- Não houve associações significativas com o câncer de mama ao analisar as interações entre os SNPs rs1121980, rs9939609 e rs17782313.

- As frequências estimadas dos haplótipos não apresentaram associações significativas com o câncer de mama.

- O desequilíbrio de ligação entre os SNPs rs1121980 e rs9939609 do gene *FTO* foi confirmado neste estudo. Um valor significativo de desequilíbrio de ligação também foi observado entre o SNP *FTO* rs9939609 e o *MC4R* rs17782313, mesmo os dois não estando no mesmo cromossomo.

- Nenhuma associação dos SNPs *FTO* rs1121980, *FTO* rs9939609 e *MC4R* rs17782313 com sobrepeso ou obesidade foi encontrada na população deste estudo.

No presente trabalho foram encontradas importantes associações entre o polimorfismo de um gene reconhecidamente associado ao sobrepeso e à obesidade com o câncer de mama. Assim, sugere-se que

este estudo seja continuado e novos trabalhos nessa área sejam realizados, visto que ainda não há resultados concludentes sobre a relação dos SNPs *FTO* rs1121980, *FTO* rs9939609 e *MC4R* rs17782313 com o câncer de mama. Há também uma grande necessidade em verificar de forma mais ampla como esses polimorfismos se comportam na população brasileira em relação ao sobrepeso e obesidade.

REFERÊNCIAS

- ADEYEMO, A. et al. *FTO* Genetic Variation and Association With Obesity in West Africans and African Americans. **Diabetes**, v. 59, p. 1549-1554, 2010.
- AHN, J. et al. Adiposity, adult weight change, and postmenopausal breast cancer risk. **Arch Intern Med**, v. 167, p. 2091-2102, 2007.
- AL-ALTAR, S. A. et al. Association between the *FTO* rs9939609 polymorphism and the metabolic syndrome in a non-caucasian multi-ethnic sample. **Cardiovasc. Diabetol.**, v. 7, n. 5, 2008.
- AMENDOLA, L. C. B.; VIEIRA, R. A contribuição dos genes *BRCA* na predisposição hereditária ao câncer de mama. **Breast**, v. 51, n. 4, p. 325-330, 2005.
- AMERICAN CANCER SOCIETY – ACS. **Breast Cancer Facts & Figures 2009-2010**. Atlanta: American Cancer Society Inc, 2009. 38p.
- AMERICAN CANCER SOCIETY – ACS. **What Causes Breast Cancer?** Disponível em: <http://www.cancer.org/docroot/CRI/content/CRI_2_2_2X_What_causes_breast_cancer_5.asp?sitearea>. Acesso em: maio, 2010.
- AMERICAN CANCER SOCIETY – ACS. **Cancer Facts & Figures 2011**. Atlanta: American Cancer Society, 2011a. 70p.
- AMERICAN CANCER SOCIETY – ACS. **Breast Cancer Overview**. Disponível em: <<http://www.cancer.org/acs/groups/cid/documents/webcontent/003037.pdf>> Acesso em: novembro de 2011b.
- ANDREASEN C. H. et al. Low physical activity accentuates the effect of the *FTO* rs9939609 polymorphism on body fat accumulation. **Diabetes**, v. 57, n. 1, p. 95-101, 2008.
- ANDREASEN, C. H.; ANDERSEN, G. Gene–environment interactions and obesity – Further aspects of genome-wide association studies. **Nutrition**, v. 25, p. 998-1003, 2009.

APPLIED BIOSYSTEMS. **StepOne™ and StepOne Plus™ Real-Time PCR Systems Installation, Networking, and Maintenance Guide**. Califonia, USA, 2007. 160p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA PARA O ESTUDO DA OBESIDADE E DA SÍNDROME METABÓLICA – ABESO. **Doenças Desencadeadas ou Agravadas pela Obesidade**. Disponível em: <94ign://www.abeso.org.br/pagina/14/artigos.shtml>. Acesso em: novembro de 2011.

BAUER, F et al. Obesity genes identified in genome-wide association studies are associated with adiposity measures and potentially with nutrient-specific food preference 1 – 3. **Obesity**, v. 3, 2009.

BENEDICT, C. et al. The fat mass and obesity gene is linked to reduced verbal fluency in overweight and obese elderly men. **Neurobiology of Aging**, v. 32, n. 6, p. 1159e1-1159e5, 2011.

BENZINOU, M. et al. Common nonsynonymous variants in *PCSK1* confer risk of obesity. **Nature Genetics**, v. 40, n. 8, p. 943-947, 2008.

BESSAOUD, F.; DAURÈS, J.P. Patterns of alcohol (especially wine) consumption and breast cancer risk: a case-control study among a population in Southern France. **Ann Epidemiol**, v. 18, p.467-475, 2008.

BOISSEL, S. et al. Loss-of-function mutation in the dioxygenase-encoding *FTO* gene causes severe growth retardation and multiple malformations. **American journal of human genetics**, v. 85, n. 1, p. 106-111, 2009.

BORGQUIST, S. et al. Anthropometric factors in relation to different tumor biological subgroups of postmenopausal breast cancer. **Int J Cancer**, v. 124, p. 402-411, 2009.

BRANDT, P. A. et al. Pooled Analysis of Prospective Cohort Studies on Height, Weight, and Breast Cancer Risk. **American Journal of Epidemiology**, v. 152, n. 6, p. 514-527, 2000.

BRANSON, R. et al. Binge eating as a major phenotype of melanocortin 4 receptor gene mutations. **N. Engl. J. Med.**, v. 348, p. 1096–1103, 2003.

BREASTCANCER.ORG. **Types of Breast Cancer**. Disponível em: <95ign://www.breastcancer.org/symptoms/types/>. Acesso em: setembro de 2010.

BULMER M. G., The effect of selection on genetic variability: a simulation study. **Amer. Nat.**, p. 105:201, 1971.

CHA, S. et al. Genetic Effects of *FTO* and *MC4R* Polymorphisms on Body Mass in Constitutional Types. **Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM**, v. 13, 2009.

CHAMBERS, J. et al. Common genetic variation near *MC4R* is associated with waist circumference and insulin resistance. **Nature genetics**, v. 40, n. 6, p. 716-718, 2008.

CHANG, Y. C. et al. Common variation in the fat mass and obesity-associated (*FTO*) gene confers risk of obesity and modulates BMI in the Chinese population. **Diabetes**, v. 57, p. 2245-2252, 2008.

CHO, Y.S. et al. A large-scale genome- wide association study of Asian population sun covers genetic factors influencing eight quantitative traits. **Nat. Genet.** V. 41, p. 527-534, 2009.

CONE, R. D. The central melanocortin system and energy homeostasis. **Trends Endocrinol. Metab.**, v.10, p. 211-216, 1999.

COUTINHO, W. Etiologia da Obesidade. **Revista ABESO**, v. 30, n. 30, 2007.

CORNES, B. K. et al. Replication of the association of common rs9939609 variant of *FTO* with increased BMI in an Australian adult twin population but no evidence for gene by environment (G x E) interaction. **International journal of obesity**, v. 33, n. 1, p. 75-79, 2009.

COWLEY, M. A. et al. Leptin activates anorexigenic POMC neurons through a neural network in the arcuate nucleus. **Nature**, v. 411, p. 480-484, 2001.

CUST, A. E. et al. The influence of overweight and insulin resistance on breast cancer risk and tumour stage at diagnosis: a prospective study. **Breast Cancer Res Treat**, v. 113, p. 567-576, 2009.

DELAHANTY, R. J. et al. Association of Obesity-related Genetic Variants With Endometrial Cancer Risk: A Report From the Shanghai Endometrial Cancer Genetics Study. **American Journal of Epidemiology**, v. 174, n. 10, p. 1115-1126, 2011.

DINA, C. Variation in *FTO* contributes to childhood obesity and severe adult obesity. **Nature Genetics**, v. 39, p. 724-726, 2007.

DIRAT, B. et al. Unraveling the Obesity and Breast Cancer Links: A Role for Cancer-Associated Adipocytes? **Endocrine Dev.**, v. 19, p. 45–52, 2010.

DUBERN B. et al. Mutational analysis of melanocortin-4 receptor, agouti-related protein, and alpha-melanocyte-stimulating hormone genes in severely obese children. **J. Pediatr.**, v. 139, p. 204–209, 2001.

ELKS C. E. et al. Thirty new *loci* for age at menarche identified by a meta-analysis of genome-wide association studies. **Nature Genetics**, v. 42, n. 12, p. 1077-1085, 2010.

ELSTON, C. W.; ELLIS, I. O. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. **Histopathology**, v. 19, p. 403-410, 1991.

EWENS, K. G. et al. *FTO* and *MC4R* gene variants are associated with obesity in polycystic ovary syndrome. **PloS one**, v. 6, n. 1, p. e16390, 2011.

FAROOQI, I. S. et al. Clinical spectrum of obesity and mutations in the melanocortin 4 receptor gene. **N. Engl. J. Med.**, v. 348, p. 1085–1095, 2003.

FELDEN, J. B. B.; FIGUEIREDO, A. C. L. Distribuição da gordura corporal e câncer de mama: um estudo de caso-controle no Sul do Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 16, n. 5, p. 2425-2433, 2011.

FRAYLING, T. M. et al. A Common Variant in the *FTO* Gene is Associated with Body Mass Index and Predisposes to Childhood and Adult Obesity. **Science**, v. 316, n. 5826, p. 889-894, 2007.

FRAYLING, T. M. et al. Author manuscript: A Common Variant in the *FTO* Gene is Associated with Body Mass Index and Predisposes to Childhood and Adult Obesity. **Science**, v. 316, n. 5826, p. 889-894, 2009.

GERKEN T. et al. The obesity-associated *FTO* gene encodes a 2-oxoglutarate-dependent nucleic acid demethylase. **Science**, v. 318, n. 5855, p. 1469-1472, 2007.

GONZÁLEZ-SÁNCHEZ, J. L. et al. Variant rs9939609 in the *FTO* gene is associated with obesity in an adult population from Spain. **Clinical Endocrinology**, v. 70, n. 3, p. 390-393, 2009.

GRANT, S. F. A. et al. Americans of European and African ancestry. **Obesity**, v. 17, n. 7, p. 1461-1465, 2010.

HAKANEN, M. et al. *FTO* genotype is associated with body mass index after the age of seven years but not with energy intake or leisure-time physical activity. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 94, n. 4, p. 1281-1287, 2009.

HANASSEIN, M. T. et al. Fine mapping of the association with obesity at the *FTO* locus in African-derived populations. **Human molecular genetics**, v. 19, n. 14, p. 2907-2916, 2010.

HARDY, R. et al. Life course variations in the associations between *FTO* and *MC4R* gene variants and body size. **Human Molecular Genetics**, v. 19, n. 3, p. 545-552, 2010.

HEARD-COSTA, N. L. et al. NRXN3 is a novel locus for waist circumference: a genome-wide association study from the CHARGE Consortium. **PloS Genet.**, v. 5, n. 6, p. e1000539, 2009.

HENNIG, B. J. et al. *FTO* gene variation and measures of body mass in an African population. **BMC medical genetics**, v. 10, n. 21, 2009.

HINNEY, A. et al. Several mutations in the melanocortin-4 receptor gene including a nonsense and a frameshift mutation associated with dominantly inherited obesity in humans. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 84, p. 1483-1486, 1999.

HINNEY, A. et al. Melanocortin-4 receptor gene: case-control study and transmission disequilibrium test confirm that functionally relevant mutations are compatible with a major gene effect for extreme obesity. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 88, p. 4258-4267, 2003.

HINNEY, A. Genome Wide Association (GWA) Study for Early Onset Extreme Obesity Supports the Role of Fat Mass and Obesity Associated Gene Variants. **PloS One**, v. 2, n. 12, p. e1361, 2007.

HO, G.; MACKENZIE, R. G. Functional characterization of mutations in melanocortin-4 receptor associated with human obesity. **The Journal of biological chemistry**, v. 274, n. 50, p. 35816-35822, 1999.

HOED, M. D. et al. Obesity-susceptibility *loci* have a limited influence on birth weight : **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 12, n. 851-860, 2011.

HOTTA, K. et al. Variations in the *FTO* gene are associated with severe obesity in the Japanese. **Journal of Human Genetics**, v. 53, p. 546-553, 2008.

HUANG, W. et al. Combined effects of *FTO* rs9939609 and *MC4R* rs17782313 on obesity and BMI in Chinese Han populations. **Endocrine**, v. 39, n. 1, p. 69-74, 2011.

HUANG, Z. et al. Dual Effects of Weight and Weight Gain on Breast Cancer Risk. **JAMA**, v. 278, n. 17, p. 1407-1411, 1997.

HUMAN PROTEIN REFERENCE DATABASE – HPRD. **Melanocortin 4 receptor**. Disponível em: <98ign://www.hprd.org/summary?hprd_id=01116&isoform_id=01116_1&isoform_name=Isoform_1>. Acesso em: novembro de 2011.

HUNT, S. C. et al. Association of the *FTO* gene with BMI. **Obesity (Silver Spring, Md.)**, v. 16, n. 4, p. 902-904, 2008.

HUSZAR, D. et al. Targeted disruption of the melanocortin-4 receptor results in obesity in mice. **Cell**, v. 88, n. 1, p. 131–141, 1997.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER – INCA. **TNM, Classificação de Tumores Malignos**. Brasil, 2004. 281p.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER – INCA. **Estimativa 2012: incidência de câncer no Brasil**. Rio de Janeiro, 2011a. 120p.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER – INCA. **Programa Nacional de Controle do Câncer de Mama**. Brasil, 2011b, 15p.

INUMARU, L. E. et al. Fatores de risco e de proteção para câncer de mama : uma revisão sistemática. **Review Literature And Arts Of The Americas**, v. 27, n. 7, p. 1259-1270, 2011.

JACOBSON, P. et al. Melanocortin 4 receptor sequence variations are seldom a cause of human obesity: the Swedish obese subjects, the HERITAGE family study, and a Memphis cohort. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 87, p. 4442-4446, 2002.

JACOBSSON, J. et al. Major gender difference in association of *FTO* gene variant among severely obese children with obesity and obesity related phenotypes. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 368, n. 3, p. 476-482, 2008.

JACOBSSON, J. et al. The common *FTO* variant rs9939609 is not associated with BMI in a longitudinal study on a cohort of Swedish men born 1920-1924. **BMC medical genetics**, v. 10, n. 131, 2009.

KAKLAMANI, V. et al. The role of the fat mass and obesity associated gene (*FTO*) in breast cancer risk. **BMC medical genetics**, v. 13, p. 12-52, 2011.

KARASAWA, S. et al. Association of the common fat mass and obesity associated (*FTO*) gene polymorphism with obesity in a Japanese population. **Endocrine journal**, v. 57, n. 4, p. 293-301, 2010.

KELLER L. et al. The obesity related gene, *FTO*, interacts with APOE, and is associated with Alzheimer's disease risk: a prospective cohort study. **J. Alzheimers Dis.**, v. 23, n. 3, p. 461-469, 2011.

KEY, T. J. et al. Nutrition and breast cancer. **The Breast**, v. 12, n. 6, p. 412-416, 2003.

KIVIMAKI, M. et al. Lifetime body mass index and later atherosclerosis risk in young adults: examining causal links using mendelian randomization in the cardiovascular risk in young finns study. **Eur. Heart J.**, v. 29, n. 20, p. 2552-2560, 2008.

KOWALSKA, I. et al. The FTO gene modifies weight, fat mass and insulin sensitivity in women with polycystic ovary syndrome, where its role may be larger than in other phenotypes. **Diabetes & Metabolism**, v. 35, n. 4, p. 328-331, 2009

KUSINSKA, R. et al. Influence of genomic variation in *FTO* at 16q12.2, *MC4R* at 18q22 and *NRXN3* at 14q31 genes on breast cancer risk. **Mol. Biol. Rep.**, 2011.

LAWLOR, D. A. et al. Using genetic *loci* to understand the relationship between adiposity and psychological distress: a Mendelian Randomization study in the Copenhagen General Population Study of 53,221 adults. **J. Intern. Med.**, v. 269, n. 5, p. 525-537, 2011.

LEE, H. J. et al. Effects of common *FTO* gene variants associated with BMI on dietary intake and physical activity in Koreans. **Clinica chimica acta: international journal of clinical chemistry**, v. 411, n. 21-22, p. 1716-1722, 2010.

LEE, Y. S. The role of leptin-melanocortin system and human weight regulation: lessons from experiments of nature. **Annals of the Academy of Medicine Singapore**, v. 38, n. 1, p. 34-111, 2009.

LEGREY, V. et al. Effect of an *FTO* polymorphism on fat mass, obesity, and type 2 diabetes mellitus in the French MONICA Study. **Metabolism: Clinical and Experimental**, v. 58, n. 7, p. 971-975, 2009.

LI, H. X. et al. Variants in the fat mass- and obesity-associated (*FTO*) gene are not associated with obesity in a Chinese Han population. **Diabetes**, v. 57, p. 264-268, 2008.

LI, S. et al. Cumulative effects and predictive value of common obesity-susceptibility variants identified by genome-wide association. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 6, p. 184-190, 2010.

LIEM, E. T. et al. Influence of common variants near *INSIG2* , in *FTO* , and near *MC4R* genes on overweight and the metabolic profile in adolescence : the TRAILS (Tracking Adolescents Individual Lives Survey) Study 1 – 3. **American Journal of Clinical Nutrition**, 2009.

LIM, L. S. et al. Relation of age-related cataract with obesity and obesity genes in an Asian population. **American journal of epidemiology**, v. 169, n. 10, p. 1267-1274, 2009.

LIMA W. A. et al. Fenótipo da gordura , fatores associados e o polimorfismo rs9939609 do gene *FTO*. **Em. Bras. Cineantropom. Desempenho Hum.**, v. 12, n. 2, p. 164-172, 2010.

LIU, G. et al. Influence of common variants in *FTO* and near *INSIG2* and *MC4R* on growth curves for adiposity in African- and European-American youth. **European journal of epidemiology**, v. 26, n. 6, p. 463-473, 2011.

LIU, Y. J. et al. Genome-wide association scans identified *CTNBL1* as a novel gene for obesity. **Human Molecular Genetics**, v. 17, n. 12, p.1803-1813, 2008.

LIU, Y. et al. Meta-analysis added power to identify variants in *FTO* associated with type 2 diabetes and obesity in the Asian population. **Obesity (Silver Spring, Md.)**, v. 18, n. 8, p. 1619-1624, 2010.

LOOS, R. J. F. et al. Common variants near *MC4R* are associated with fat mass, weight and risk of obesity. **Nature Genetics**, v. 40, n. 6, p. 768-775, 2008.

LOOS, R. J. F. The genetic epidemiology of melanocortin 4 receptor variants. **European journal of pharmacology**, v. 660, n. 1, p. 156-164, 2011.

LUAN, J. et al. A multilevel linear mixed model of the association between candidate genes and weight and body mass index using the

Framingham longitudinal family data. **BioMed Central Proceedings**, v. 3, p. 1-6, 2009.

LUBRANO-BERTHELIER, C. et al. Intracellular retention is a common characteristic of childhood obesity-associated *MC4R* mutations. **Hum. Mol. Genet.**, v. 12, p.145-153, 2003.

LURIE et al., The obesity-associated polymorphisms *FTO* rs9939609 and *MC4R* rs17782313 and endometrial cancer risk in non-Hispanic white women. **PloS one**, v. 6, n. 2, p. e16756, 2011.

LYSSENKO, V. et al. Clinical risk factors, DNA variants, and the development of type 2 diabetes. **N. Engl. J. Med.**, v. 359, p. 2220-2232, 2008.

MACEKOVÁ, S. et al. Association of the *FTO* rs9939609 polymorphism with obesity in roma/gypsy population. **American Journal of Physical Anthropology**, 2011.

MANGGE, H. et al. Rs9939609 variant of the fat mass and obesity-associated gene and trunk obesity in adolescents. **Journal of Obesity**, v. 2011, 2011.

MATHEW, A. et al. Anthropometric factors and breast cancer risk among urban and rural women in South India: a multicentric case-control study. **Br J Cancer**, v. 99, p. 207-213, 2008.

MEYRE, D. et al. Genome-wide association study for early-onset and morbid adult obesity identifies three new risk *loci* in European populations. **Nature genetics**, v. 41, n. 2, p. 157-159, 2009.

MOLERES, A. et al. Dietary fatty acid distribution modifies obesity risk linked to the rs9939609 polymorphism of the fat mass and obesity-associated gene in a Spanish case-control study of children. **The British journal of nutrition**, p. 1-6, 2011.

MORI, Y. Regulation of appetite by melanocortin and its receptors. **Nihon Rinsho**, v. 59, n. 3, p. 431-436, 2001.

MOUNTJOY, K. G. et al. Localization of the melanocortin-4 receptor (MC4-R) in neuroendocrine and autonomic control circuits in I brain. **Mol. Endocrinol.**, v. 8, p. 1298–1308, 1994.

MULLER, T. D. et al. Fat mass and obesity associated gene (*FTO*): no significant association of variant rs9939609 with weight loss in a lifestyle intervention and lipid metabolism markers in German obese children and adolescents. **BMC Medical Genetics**, v. 9, n. 85, 2008.

NAHLEH, Z. Breast cancer, obesity and hormonal imbalance: a worrisome trend. **Expert Rev. Anticancer Ther.**, v. 11, n. 6, p. 817–819, 2011.

NATIONAL CANCER INSTITUTE – NCI. **Obesity and Cancer: Questions and Answers**. Estados Unidos, 2004. 20p.

NATIONAL CANCER INSTITUTE – NCI. **What You Need To Know About™ Breast Cancer**. Estados Unidos, 2009. 66p.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION – NCBI. *FTO fat mass and obesity associated [Homo sapiens]*. Disponível em: <103ign://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/79068>. Acesso em novembro de 2011^a.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION – NCBI. *MC4R melanocortin 4 receptor [Homo sapiens]*. Disponível em: <103ign://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/4160>. Acesso em: novembro de 2011b.

NEMESURE, B. et al. Risk factors for breast cancer in a black population – the Barbados National Cancer Study. **Int J Cancer**, v.124, p. 174-179, 2009.

NOCK, N. L. et al. Modeling Genetic and Environmental Factors in Biological Systems Using Structural Equation Modeling: An Application to Energy Balance. **NIH Public Access**, p. 1-14, 2011.

OLLMANN, M. M. Antagonism of central melanocortin receptors in vitro and in vivo by agouti-related protein. **Science**, v. 278, n. 5335, p. 135-138, 1997.

PALMER, J.R. et al. A prospective study of body size and breast cancer in black women. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, v. 16, p. 1795-1802, 2007.

PEETERS, A. et al. Variants in the *FTO* gene are associated with common obesity in the Belgian population. **Molecular genetics and metabolism**, v. 93, n. 4, p. 481-484, 2008.

PETERS T. et al. Cloning of fatso (Fto), a novel gene deleted by de fused toes (Ft) mouse mutation. **Mamm. Genome**, v. 10, n. 10, p. 983-986, 1999.

PRICE, R. A. et al. *FTO* gene SNPs associated with extreme obesity in cases, controls and extremely discordant sister pairs. **BMC medical genetics**, v. 9, p. 1-5. 2008.

QI, L. et al. The common obesity variant near *MC4R* gene is associated with higher intakes of total energy and dietary fat, weight change and diabetes risk in women. **Human molecular genetics**, v. 17, n. 22, p. 3502-3508, 2008.

RAKHA, E. A.; ELLIS, I. O. Modern classification of breast cancer: should we stick with morphology or convert to molecular profile characteristics. **Advances in anatomic pathology**, v. 18, n. 4, p. 255-267, 2011.

RAMOS, R. B. et al. Variations in the fat mass and obesity-associated (FTO) gene are related to glucose levels and higher lipid accumulation product in postmenopausal women from southern Brazil. **Fertility and Sterility**, p. 1-6, 2011.

RAMPERSAUD, E. et al. Physical activity and the association of common *FTO* gene variants with body mass index and obesity. **Archives of internal medicine**, v. 168, n. 16, p. 1791-1797, 2008.

RANADIVE, S.; VAISSE, C. Lessons from extreme human obesity: monogenic disorders. **Endocrinology and metabolism clinics of North America**, v. 37, p. 733-751, 2008.

RANJITH, N. et al. Obesity-associated genetic variants in young Asian Indians with the metabolic syndrome and myocardial infarction. **Cardiovascular journal of Africa**, v. 22, n. 1, p. 25-30, 2011.

RAZQUIN, C. et al. A 3-year intervention with a Mediterranean diet modified the association between the rs9939609 gene variant in *FTO* and body weight changes. **Int. J. Obes.**, v. 34, p. 266–272, 2010.

REES, S. D. et al. An *FTO* variant is associated with Type 2 diabetes in South Asian populations after accounting for body mass index and waist circumference. **Diabetic Medicine: a journal of the British Diabetic Association**, v. 28, n. 6, p. 673-680, 2011.

RENSTROM, F. et al. Replication and extension of genome-wide association study results for obesity in 4923 adults from northern Sweden. **Human Molecular Genetics**, v. 18, n. 8, p. 1489-1486, 2009.

ROBBENS, S. et al. The *FTO* Gene, Implicated in Human Obesity, is Found Only in Vertebrates and Marine Algae. **Journal of Molecular Evolution**, v. 66, n. 1, p. 80-84, 2008.

RUIZ, J. R. et al. Attenuation of the effect of the *FTO* rs9939609 polymorphism on total and central body fat by physical activity in adolescents: the HELENA study. **Archives of pediatrics & adolescent medicine**, v. 164, n. 4, p. 328-333, 2010.

RUTTERS, F. et al. Genetic associations with acute stress-related changes in eating in the absence of hunger. **Patient education and counseling**, v. 79, n. 3, p. 367-371, 2010.

SAMBROOK, J.; RUSSEL, D. W. **Molecular cloning: a laboratory manual**. 3. Ed. New York: Cold Spring Harbor, v. 1, 2001.

SEAL, N. et al. Correlates of the *FTO* Gene Variant (rs9939609) and Growth of American Indian Infants. **Genetic Testing and Molecular Biomarkers**, p. 1-6, 2011.

SCUTERI, A. et al. Genome-Wide Association Scan Shows Genetic Variants in the *FTO* Gene Are Associated with Obesity-Related Traits. **PloS Genetics**, v. 3, n. 7, p. e115, 2007.

SINA, M. et al. Phenotypes in three pedigrees with autosomal dominant obesity caused by haploinsufficiency mutations in the melanocortin-4 receptor gene. **Am. J. Hum. Genet.**, v. 65, p. 1501-1507, 1999.

SLATKIN, M. Linkage disequilibrium-understanding the evolutionary past and mapping the medical future. **Nature reviews Genetics**, v. 9, n. 6, p. 477-85, 2008.

SONG, Y. et al. Modeling Genetic and Environmental Factors in Biological Systems Using Structural Equation Modeling: An Application to Energy Balance. **Obesity**, v. 16, n. 11, p. 2472-2480, 2008.

STEEMBURGO, T. et al. The rs7204609 Polymorphism in the Fat Mass and Obesity-Associated Gene is Positively Associated With Central Obesity and Microalbuminuria in Patients With Type 2 Diabetes From Southern Brazil. **Journal of Renal Nutrition**, p. 1-9, 2011.

STRATIGOPOULOS G. et al. Regulation of Fto/ Ftm gene expression in mice and humans. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, v. 294, n. 4, p. R1185-1196, 2008.

TABARA, Y. et al. Prognostic significance of *FTO* genotype in the development of obesity in Japanese: the J-SHIP study. **Int J Obes (Lond)**, v. 33, p. 1243-1248, 2009.

TAKEUCHI, F. et al. Association of genetic variants for susceptibility to obesity with type 2 diabetes in Japanese individuals. **Diabetologia**, v. 54, n. 6, p. 1350-1359, 2011.

TAN, J. T. et al. *FTO* Variants Are Associated With Obesity in the Chinese and Malay Populations in Singapore. **Diabetes**, v. 57, p. 2851-2857, 2008.

TAN, S. et al. Large effects on body mass index and insulin resistance of fat mass and obesity associated gene (*FTO*) variants in patients with polycystic ovary syndrome (PCOS). **BMC Medical Genetics**, v. 11, n. 12, p. 1-9, 2010.

TAYLOR, A. E. et al. Associations of *FTO* and *MC4R* Variants with Obesity Traits in Indians and the Role of Rural/Urban Environment as a Possible Effect Modifier. **Journal of obesity**, v. 2011, p. 1-7, 2011.

THE WELLCOME TRUST CASE CONTROL CONSORTIUM – WCTCC. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. **Nature**, v. 447, n. 7145, p. 661–678, 2007.

TIMPSON, N. J. et al. The fat mass- and obesity-associated locus and dietary intake in children. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 88, n. 4, p. 971-978, 2008.

TRENTAM-DIETZ, A. et al. Body Size and Risk of Breast Cancer. **American Journal of Epidemiology**, v. 145, n. 11, p. 1011-1019, 1997.

TSCHITTER, O. et al. An Obesity Risk SNP (rs17782313) near the *MC4R* Gene Is Associated with Cerebrocortical Insulin Resistance in Humans. **Journal of obesity**, v. 2011, 2011.

VAN DER HOEVEN F. et al. Programmed cell death is affected in the novel mouse mutant Fused toes (Ft). **Development**, v. 120, n. 9, p. 2601-2607, 1994.

VAISSE, C. et al. A frameshift mutation in human *MC4R* is associated with a dominant form of obesity. **Nature America Inc.**, v. 20, p. 113-114, 1998.

VALLI-JAAKOLA, K. et al. Identification and characterization of melanocortin-4 receptor gene mutations in morbidly obese finnish children and adults. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 89, p. 940–945, 2004.

VILLALOBOS-COMPARÁN, M. et al. The *FTO* gene is associated with adulthood obesity in the Mexican population. **Obesity**, v. 16, n. 10, p. 2296-2301, 2008.

VIMALESWARAN, K. S. et al. Physical activity attenuates the body mass index-increasing influence of genetic variation in the *FTO* gene. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 90, p. 425-428, 2009.

WARDLE, J. et al. Obesity associated genetic variation in *FTO* is associated with diminished satiety. **The Journal of clinical endocrinology and metabolism**, v. 93, n. 9, p. 3640-3643, 2008.

WEHR, E. et al. Association of *FTO* gene with hyperandrogenemia and metabolic parameters in women with polycystic ovary syndrome. **Metabolism: clinical and experimental**, v. 59, n. 4, p.575-580, 2010.

WELSH, P. et al. Unraveling the directional link between adiposity and inflammation: a bidirectional Mendelian randomization approach. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 95, n. 1, p. 93-99, 2010.

WILLER, C. J. et al. Six new *loci* associated with body mass index highlight a neuronal influence on body weight regulation. **Nature Genetics**, v. 41, n. 1, p. 25-34, 2009.

WING, M. R. et al. Analysis of *FTO* gene variants with measures of obesity and glucose homeostasis in the IRAS Family Study. **Human Genetics**, v. 125, p. 615-626, 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. **GLOBOCAN 2008, Cancer Incidence and Mortality Worldwide in 2008**. Disponível em: <108ign://globocan.iarc.fr/>. Acesso em: novembro de 2008.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. **Cancer**. Disponível em: <108ign://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/index.html.> Acesso em: novembro de 2011a.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. **Breast cancer: prevention and control**. Disponível em: <108ign://www.who.int/cancer/detection/breastcancer/en/> Acesso em: novembro de 2011b.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. **Obesity and Overweight**. Disponível em: <108ign://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>. Acesso em: novembro de 2011c.

XI, B. et al. The common rs9939609 variant of the fat mass and obesity-associated gene is associated with obesity risk in children and adolescents of Beijing, China. **BMC medical genetics**, v. 11, n. 107, p. 1-8, 2010.

XI, B. et al. Influence of physical inactivity on associations between single nucleotide polymorphisms and genetic predisposition to childhood obesity. **American journal of epidemiology**, v. 173, n. 11, p. 1256-1262, 2011.

YAJNIK, C. S. et al. *FTO* gene variants are strongly associated with type 2 diabetes in South Asian Indians. **Diabetologia**, v. 52, p. 247-252, 2009.

YAN, Q. et al. Association of the common rs9939609 variant of *FTO* gene with polycystic ovary syndrome in Chinese women. **Endocrine**, v. 36, p. 377-382, 2009.

YAN, X. S., et al. PS2-41: The *FTO* Gene, Its Variants and Post-menopausal Breast Cancer. **Clinical medicine & research**, v. 9, n. 3-4, p. 143, 2011.

YEO, G. S. H. et al. A frameshift mutation in *MC4R* associated with dominantly inherited human obesity. **Nature Genetics**, v. 20, p. 111-112, 1998.

YEO, G. S. H. et al. The role of melanocortin 109signaling in the control of body weight: evidence from human and murine genetic models. **QJM: monthly journal of the Association of Physicians**, v. 93, n. 1, p. 7-14, 2000.

ZABENA, C. et al. The *FTO* obesity gene. Genotyping and gene expression analysis in morbidly obese patients. **Obesity Surgery**, v. 19, n. 1, p. 87-95, 2009.

ZIMMERMANN, E. et al. Influences of the common *FTO* rs9939609 variant on inflammatory markers throughout a broad range of body mass index. **PLoS One**, v. 6, n. 1, p. e15958, 2011.

ZOBEL, D. P. et al. Variants Near *MC4R* Are Associated With Obesity and Influence Obesity-Related Quantitative Traits in a. Blood. **Diabetes**, v. 58, p. 757-764, 2009.

ANEXO A

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - GRUPO CONTROLE

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA CELULAR,
EMBRIOLOGIA E GENÉTICA
LABORATÓRIO DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Projetos de Pesquisa:

“Câncer de mama: avaliação de parâmetros informativos para diagnóstico e prognóstico na população do estado de Santa Catarina”

e

“Genética da autoimunidade: polimorfismos em lúpus eritematoso sistêmico e artrite reumatóide em pacientes de Santa Catarina”

Informações:

Pesquisadores da Universidade Federal de Santa Catarina estão desenvolvendo projetos de pesquisa para avaliação de fatores genéticos, doenças e hábitos alimentares e pessoais que podem estar associados ao **aparecimento do câncer de mama e doenças autoimunes**. Para isto pedimos sua **colaboração e permissão** para fazer parte do **grupo controle** e para extrairmos de parte de seu material biológico, uma quantia pequena de **DNA** (molécula que contém os genes, que são as informações de suas características biológicas). O DNA será analisado no laboratório para tentarmos descobrir se há relação entre alguns genes, propostos nos atuais projetos (ligados ao metabolismo de hormônios sexuais, de substâncias estranhas ao organismo, relacionados ao reparo de DNA e sistema imune) e o aparecimento destas doenças. A amostra coletada nesta ocasião poderá ser utilizada em possíveis futuros projetos que envolvam testes genéticos, aprovados pelo sistema CEP/CONEP, desde que receba novamente sua autorização, após um novo contato. Deixamos claro que **sua participação é voluntária**. A equipe agradece antecipadamente sua colaboração e se coloca à sua disposição para responder qualquer pergunta que você queira fazer, e esclarecer

quaisquer dúvidas que porventura apareçam. Para isso você pode telefonar para o número **(48) 3721-9804** e conversar com a Profa. Dra. Ilíada Rainha de Souza ou seus orientandos.

Procedimentos:

Caso você concorde em participar, você irá preencher um questionário para sabermos seus dados pessoais (como nome, endereço e telefone) e irá assinar um termo de consentimento livre e esclarecido para que possamos utilizar seus dados pessoais e material biológico nestas pesquisas.

Também precisaremos tirar um pouco de sangue numa seringa.

O DNA extraído das amostras coletadas será guardado no Laboratório sob responsabilidade da coordenadora do projeto.

Entraremos em contato pelo telefone fornecido o mais breve possível para realizarmos um novo questionário de duração máxima de 20 minutos. Este questionário irá conter dados como seus hábitos alimentares e pessoais, histórico reprodutivo e histórico clínico, essenciais para o desenvolvimento das pesquisas.

Riscos:

A coleta de sangue é um procedimento normal para a realização de vários exames. O aparecimento de mancha roxa ou dor no local da espetada da agulha podem ocorrer sem representar maiores preocupações. As informações coletadas, bem como os resultados das análises genéticas serão mantidas em sigilo e serão utilizadas somente pela equipe da pesquisa.

Custos:

Você não precisará pagar nada para fazer parte deste estudo.

Benefícios

Você não terá nenhum benefício direto ao participar desta pesquisa, mas os resultados deste estudo poderão no futuro proporcionar novas alternativas para prevenção do câncer de mama e doenças autoimunes, e para identificação de pessoas que tem risco de desenvolver essas doenças, podendo beneficiar muitas outras pessoas.

Assinaturas:

Pesquisador responsável _____
Florianópolis, __/__/____

DECLARAÇÃO DE CONSENTIMENTO

Eu, _____, fui esclarecido(a) sobre as pesquisas “Câncer de mama: avaliação de parâmetros informativos para diagnóstico e prognóstico na população do estado de Santa Catarina” e “Genética da autoimunidade: polimorfismos em lúpus eritematoso sistêmico e artrite reumatóide em pacientes de Santa Catarina”, e concordo que meus dados sejam utilizados na realização das mesmas.

Florianópolis,

Assinatura: _____

RG: _____

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - GRUPO DE PACIENTES

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA CELULAR,
EMBRIOLOGIA E GENÉTICA
LABORATÓRIO DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Projeto de Pesquisa: “Câncer de mama: avaliação de parâmetros informativos para diagnóstico e prognóstico na população do estado de Santa Catarina”.

Informações:

Pesquisadores da Universidade Federal de Santa Catarina estão desenvolvendo um projeto de pesquisa para avaliação de fatores genéticos, doenças e hábitos alimentares e pessoais que podem estar associados ao aparecimento do câncer de mama. Pedimos a sua colaboração através da doação de uma amostra de seu material biológico e permissão para extrairmos dele uma quantidade de DNA (molécula que contém os genes, que são as informações de suas características biológicas). O DNA será analisado no laboratório para tentarmos descobrir se há relação entre alguns genes, propostos no atual projeto (ligados ao metabolismo de hormônios sexuais e de substâncias estranhas ao organismo e também relacionados ao reparo de DNA) e o aparecimento dessa doença. A amostra coletada poderá ser utilizada em projetos futuros que envolvam análises genéticas, aprovados pelo sistema CEP/CONEP, desde que receba novamente sua autorização, após um novo contato. Deixamos claro que sua participação é voluntária e que ela não influenciará no seu atendimento e tratamento. A equipe agradece antecipadamente sua colaboração e se coloca à disposição para responder qualquer pergunta ou esclarecer dúvidas que porventura apareçam. Para isto, você poderá telefonar para o número (48) 3721-9804 ou (48) 3721-5154 e conversar com a Profa. Dra. Iliada Rainha de Souza ou com a Profa. Dra. Maria Cecília Menks Ribeiro.

Procedimentos:

Caso você concorde em participar, você irá responder um questionário de duração aproximada de 5 minutos, para sabermos se você teve outras doenças, se outras pessoas na sua família tiveram câncer, etc.

Também precisaremos de um pedacinho do tumor que será retirado pelo médico na hora da cirurgia e de tirar um pouco de sangue numa seringa.

O DNA extraído das amostras coletadas será guardado no Laboratório sob responsabilidade da coordenadora do projeto.

Riscos:

A coleta de sangue e a retirada do tumor são procedimentos normais para o tratamento da sua doença. O aparecimento de mancha roxa ou dor no local da espetada da agulha podem ocorrer sem representar maiores preocupações. As informações coletadas, bem como os resultados das análises genéticas serão mantidos em sigilo e serão utilizadas somente pela equipe da pesquisa.

Custos:

Você não precisará pagar nada para fazer parte deste estudo

Benefícios

Você não terá nenhum benefício direto ao participar desta pesquisa, mas os resultados deste estudo poderão no futuro proporcionar novas alternativas para prevenção do câncer, e para identificação de pessoas que tem risco de desenvolver a doença, podendo beneficiar muitas outras pessoas.

Assinaturas:

Pesquisador principal _____

Pesquisador responsável _____

Florianópolis, ____/____/____

DECLARAÇÃO DE CONSENTIMENTO

Eu, _____, fui esclarecida sobre a pesquisa “Câncer de mama: avaliação de parâmetros informativos para diagnóstico e prognóstico na população do estado de Santa Catarina”, e concordo que meus dados sejam utilizados na realização da mesma e autorizo a guarda de meu material biológico para o caso de futuras pesquisas, sendo eu contatado para fornecer nova autorização caso forem realizadas novas pesquisas não mencionadas neste projeto.

Florianópolis, _____

Assinatura: _____ RG: _____

ANEXO B

QUESTIONÁRIOS DO GRUPO CONTROLE

Universidade Federal de Santa Catarina
Centro de Ciências Biológicas
Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética – BEG
Laboratório de Polimorfismos Genéticos

QUESTIONÁRIO – GRUPO CONTROLE

Data: __/__/__ **Coleta:** () sangue

Dados Pessoais:

Nome: _____
Endereço: _____
Cidade: _____ Telefone Residencial: _____ Telefone
Trabalho: _____ Celular: _____
Idade: _____ Sexo: () M () F Data de nascimento: _____
Estado Civil: _____ Tipo de sangue: _____
Profissão: _____ Aposentado: () Sim () Não
Escolaridade: () analfabeto () 1º grau incompleto
() 1º grau completo () 2º grau incompleto
() 2º grau completo () superior incompleto
() superior completo () pós graduação
Peso: _____ Altura: _____
Cidade onde nasceu: _____
Ascendência: Materna _____ Paterna _____
Etnia: () Euro descendente () Afro descendente
() Asiático descendente () Indígena descendente
Cor da pele: () negra () mulata () amarela () branca
Observação: _____

Dados Familiares:

Nome do pai: _____
Cidade onde nasceu: _____
Ascendência do pai: Materna _____ Paterna _____
Profissão: _____

Nome da mãe: _____
Cidade onde nasceu: _____
Descendência da mãe:
Materna _____ Paterna _____

Profissão: _____

Possui Irmãos: (). Sim (). Não Quantos: _____

Possui filhos: (). Sim (). Não Quantos: _____

Ingere **BEBIDA ALCOÓLICA**? (). Sim (). Não

Frequência: (). Todos os dias (). Fim de semana

(). Esporadicamente (Festas).

Quantidade (copos 200ml): _____

Que tipo de bebida alcoólica ingere mais frequentemente?

(). Cerveja (). Vinho (). Cachaça (). Outro _____

Que tipo de bebida alcoólica nunca ingere?

(). Cerveja (). Vinho (). Cachaça (). Outro _____

Pratica **EXERCÍCIOS FÍSICOS**? (). Sim (). Não

Tipo: _____

Quantidade: (). menos de 30 min (). 30 min (). 1h (). mais de 1 h

Frequência: (). 1x semana (). 2-3x semana (). 4-6x semana

(). Todo os dias (). Menos de 1x semana

Você **FUMA**? (). Sim (). Não Você já **FUMOU**? (). Sim (). Não

Tipo: (). Cigarro (). Charuto (). Cachimbo (). Outro _____

Quantidade e Frequência (nº de cigarros por dia): _____

Tempo que fuma ou fumou: _____

Há quanto tempo parou: _____

Entrevistador: _____ **Data da entrevista:** ____/____/____

Nome: _____

Identificação: _____

Histórico Hormonal e Reprodutivo

Idade da MENARCA: _____

MENOPAUSA: () . Sim () . Não Idade: _____

HISTERECTOMIA: () . Sim () . Não

PARIDADE:

Nº de gestações ____ Idade da 1ª estação ____ nº de filhos () . nulípara N: ____

Abortos () . P () . E N: _____

Amamentou: () . Sim () . Não Tempo total (meses):

TRAT. HORMONAL:

Utiliza AC? () . Sim () . Não Já utilizou AC? () . Sim () . Não

Nome e tipo (oral, adesivo, injetável). do AC: _____

Tempo que usa ou usou AC: _____

Há quanto tempo parou? _____

Faz TRH? () . Sim () . Não Já fez TRH? () . Sim () . Não

Nome do hormônio:

Tempo que faz ou fez TRH

Há quanto tempo parou?

() . Outros hormônios _____ Tempo total:

Observações: _____

Histórico Médico

Caso de **CÂNCER** pessoal? () . Sim () . Não

Tipo: _____

Casos de **CÂNCER DE MAMA** na família? () . Sim () . Não

Grau de Parentesco: () . filha () . irmã () . mãe () . avó

() . tia materna 1º grau () . tia paterna 1º grau

() . prima materna 1º grau () . prima paterna 1º grau

() . Outros _____

Casos de **CÂNCER** de outro tipo na família? () . Sim () . Não

Grau de Parentesco e tipo: _____

Caso de **TUMOR BENIGNO** pessoal? ().Sim (). Não

Local: _____

Caso de **DOENÇA AUTOIMUNE** pessoal? ().Sim (). Não

Qual? _____

Tempo de diagnóstico: _____

Casos de **DOENÇA AUTOIMUNE** na família? ().Sim (). Não

Grau de Parentesco e tipo: _____

Você tem alguma **DOENÇA CARDIOVASCULAR**?: ().Sim (). Não
Qual? (s). _____

HIPERTENSÃO ARTERIAL: ().Sim (). Não

HIPERCOLESTEROLEMIA: ().Sim (). Não

OSTEOPOROSE: ().Sim (). Não

DOENÇA REUMÁTICA: ().Sim (). Não

DIABETES: ().Sim (). Não

ASMA: ().Sim (). Não

HIV: ().Sim (). Não (). Nunca fez exame

HEPATITE: ().Sim (). Não (). Nunca fez exame

DENGUE: ().Sim (). Não

TUBERCULOSE: ().Sim (). Não

DISTÚRBIO RENAL: ().Sim (). Não

DISTÚRBIO PULMONAR: ().Sim (). Não

DISTÚRBIO HEPÁTICO: ().Sim (). Não

Casos de **DOENÇA DE ALZHEIMER** na família: ().Sim (). Não

Grau de parentesco: _____

Casos de **DOENÇA DE PARKINSON** na família: ().Sim (). Não

Grau de parentesco: _____

OUTRAS DOENÇAS?: _____

Alérgico a algum medicamento? _____

Alérgico a algum alimento? _____

Teve **DEPRESSÃO**? _____

Utilizou ou utiliza alguma medicação por longo tempo? (). Sim ().

Não Nome do medicamento (dosagem e frequência). e tempo que utilizou: _____

QUESTIONÁRIOS DO GRUPO DE PACIENTES

Universidade Federal de Santa Catarina
Centro de Ciências Biológicas
Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética – BEG
Laboratório de Polimorfismos Genéticos

QUESTIONÁRIO – PACIENTES

Data: __/__/__ **Coleta:** () SANGUE () TUMOR

ENTREVISTADOR _____

MÉDICO RESPONSÁVEL _____ HOSPITAL _____

Dados Pessoais:

Nome: _____

Endereço: _____

Cidade: _____ Telefone _____

Residencial: _____

Telefone Trabalho: _____ Celular: _____

Idade: _____ Sexo: () M () F Data de nascimento: _____

Estado Civil: _____ Tipo de sangue: _____

Profissão: _____ Aposentado: () Sim () Não

Escolaridade: () analfabeto () 1º grau incompleto

() 1º grau completo () 2º grau incompleto

() 2º grau completo () superior incompleto

() superior completo () pós graduação

Peso: _____ Altura: _____

Cidade onde nasceu: _____

Ascendência:

Materna _____ Paterna _____

Etnia: () Euro descendente () Afro descendente

() Asiático descendente () Indígena descendente

Cor da pele: () negra () mulata () amarela () branca

Observação: _____

Dados Familiares:

Nome do pai: _____

Cidade onde nasceu: _____

Ascendência do pai: Materna _____ Paterna _____

Profissão: _____

Nome da mãe: _____

Cidade onde nasceu: _____

Descendência da mãe: Materna _____ Paterna _____

Profissão: _____

Possui Irmãos: () Sim () Não Quantos: _____

Possui filhos: () Sim () Não Quantos: _____

Ingere **BEBIDA ALCOÓLICA**? () Sim () Não

Frequência: () Todos os dias () Fim de semana

() Esporadicamente (Festas)

Quantidade (copos 200ml): _____

Que tipo de bebida alcoólica ingere mais frequentemente?

() Cerveja () Vinho () Cachaça () Outro _____

Que tipo de bebida alcoólica nunca ingere?

() Cerveja () Vinho () Cachaça () Outro _____

Pratica **EXERCÍCIOS FÍSICOS**? () Sim () Não

Tipo: _____

Quantidade: () menos de 30 min () 30 min () 1h () mais de 1 h

Frequência: () 1x semana () 2-3x semana () 4-6x semana

() Todo os dias () Menos de 1x semana

Você **FUMA**? () Sim () Não Você já **FUMOU**? () Sim () Não

Tipo: () Cigarro () Charuto () Cachimbo () Outro _____

Quantidade e Frequência (nº de cigarros por dia): _____

Tempo que fuma ou fumou: _____

Há quanto tempo parou: _____

Histórico Hormonal e Reprodutivo

Idade da MENARCA: _____

MENOPAUSA: () Sim () Não Idade: _____

HISTERECTOMIA: () Sim () Não

PARIDADE:

Nº de gestações _____ Idade da 1ª estação _____

Nº de filhos () nulípara N: _____

Abortos () P () E N: _____

Amamentou: () Sim () Não Tempo total (meses): _____

TRAT. HORMONAL:

Utiliza AC? () Sim () Não Já utilizou AC? () Sim () Não

Nome e tipo (oral, adesivo, injetável) do AC: _____

Tempo que usa ou usou AC: _____

Há quanto tempo parou? _____

Faz TRH? () Sim () Não Já fez TRH? () Sim () Não

Nome do Hormônio _____ Tempo que faz ou fez TRH: _____

Há quanto tempo parou? _____

Outros hormônios _____ Tempo total: ____

Observações: _____

Histórico Médico

Casos de **CÂNCER DE MAMA** na família? () Sim () Não

Grau de Parentesco: () filha () irmã () mãe () avó
 () tia materna 1º grau () tia paterna 1º grau
 () prima materna 1º grau () prima paterna 1º grau
 Outros _____

Casos de **CÂNCER** de outro tipo na família ou pessoal? () Sim () Não

Grau de Parentesco e tipo: _____

Caso de **TUMOR BENIGNO DE MAMA** pessoal? () Sim () Não

Classificação: _____

HISTÓRICO do câncer de mama (versão PACIENTE):

HISTÓRICO do câncer de mama (PRONTUÁRIO):

CLASSIFICAÇÃO do tumor (biópsia após cirurgia):

() Carcinoma ductal () Invasivo
 () Carcinoma lobular () “*in situ*”
 () Microcalcificações () Doença de Paget
 Outro _____

Resultado imunohistoquímica:

Você tem alguma DOENÇA CARDIOVASCULAR?: () Sim () Não

Qual? (s) _____

HIPERTENSÃO ARTERIAL: () Sim () Não

HIPERCOLESTEROLEMIA: () Sim () Não

OSTEOPOROSE: () Sim () Não

DOENÇA REUMÁTICA: () Sim () Não

DIABETES: () Sim () Não

ASMA: () Sim () Não

HIV: () Sim () Não () Nunca fez exame

HEPATITE: () Sim () Não () Nunca fez exame

DENGUE: () Sim () Não

TUBERCULOSE: () Sim () Não

DISTÚRBO RENAL: () Sim () Não

DISTÚRBO PULMONAR: () Sim () Não

DISTÚRBO HEPÁTICO: () Sim () Não

Casos de DOENÇA DE ALZHEIMER na família: () Sim () Não

Grau de parentesco: _____

Casos de DOENÇA DE PARKINSON na família: () Sim () Não

Grau de parentesco: _____

OUTRAS DOENÇAS?:_____

Alérgico a algum medicamento?_____

Alérgico a algum alimento?_____

Teve

DEPRESSÃO?_____

Utilizou ou utiliza alguma medicação por longo tempo? () Sim () Não

Nome do medicamento (dosagem e frequência) e tempo que utilizou:
